

**Differenzierung
von aus Kuhmilch isolierten
koagulasepositiven Staphylokokken**

Kurt Kroiher

1967

Aus dem Institut für Nahrungsmittelkunde der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Vorstand: Professor Dr. L. Kotter

DIFFERENZIERUNG VON AUS KUHMITCH ISOLIERTEN
KOAGULASEPOSITIVEN STAPHYLOKOKKEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der veterinär-medizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Kurt Kroiber
aus
Kienberg

1967

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Professor Dr. A. Herrlich

Referent: Professor Dr. L. Kotter

Tag der Promotion: 27. Februar 1967



INHALTSVERZEICHNIS

Seite

I. Einleitung

II. Beschäftigung

A. Beschäftigung der Eltern mit dem Kind

1. Mutter

B. Hygienische Bedeutung der Beschäftigung des Kindes

1. Körperliche Beschäftigung

2. Geistige Beschäftigung

C. Meinen lieben Eltern

1. Mutter

1. Kindheit und Jugend

2. Ausbildung und Beruf

3. Ehe

4. Familie

III. Zweite Generation

1. Mutter

2. Vater

1. Kindheit und Jugend

2. Ausbildung und Beruf

3. Ehe

4. Familie

5. Differenzierung der Kindergruppen

a) Körperliche

b) Geistige

c) Soziale

d) Charakterliche

e) Finanzielle

f) Politische

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
I. Einleitung	1
II. Schrifttum	2
A. Klassifizierung der gram- und katalasepositiven Kokken	2
B. Hygienische Bedeutung boviner Staph. aureus-Stämme	3
1. Eitererreger beim Menschen	3
2. Enterotoxinbildner	4
C. Differenzierung von koagulasepositiven Staphylo- kokken	4
1. Fermentative Leistungen	4
2. Antibigramm-Bestimmung	9
3. Lysotypie	10
4. Serologie	11
III. Eigene Untersuchungen	13
A. Material	13
B. Methodik	13
1. Entnahme und bakteriologische Untersuchung der Viertelgemelkproben beim Rind	13
2. Identifizierung von Keimen der Familie Micro- coccaceae Pribram 1929	13
3. Abgrenzung koagulasepositiver Micrococcaceae von den koagulasenegativen	14
4. Aufbewahrung der Stämme	15
5. Differenzierung der koagulasepositiven Staphylo- kokken	16
a) Hämolysinbildung	16
b) Eigelbtest	16
c) Aerobe Mannitfermentierung	17
d) Kristallviolett-Test	17
e) Plasmaagglutination	17
f) Reduktase-Test	18

	Seite
g) Fibrinolyseinbildung	18
h) Antibiotogramm	19
i) Lysotypie	20
6. Plasmaagglutination und Hämolysevermögen von koagulasenegativen Micrococcaceae	21
C. Untersuchungen und Untersuchungsergebnisse	21
1. Bakteriologische Untersuchungsergebnisse von 2796 Viertelgemelkproben	21
2. Differenzierung der koagulasepositiven Staphylokokken	23
3. Beziehungen zwischen Lysisbildern und anderen biologischen Merkmalen	31
IV. Diskussion	35
V. Zusammenfassung	39
VI. Literaturverzeichnis	41
Lebenslauf	53

I. E I N L E I T U N G

Koagulasepositive Staphylokokken sind seit langem als Erreger verschiedener Krankheitsprozesse, insbesondere von Eiterungen, bei Mensch und Tier bekannt. Sie haben in letzter Zeit an Bedeutung gewonnen. Im Vordergrund des Interesses stehen aus humanmedizinischer Sicht die Staphylokokken-Hospitalepidemien und die infolge von Enterotoxinbildung beim Menschen ausgelösten Nahrungsmittelvergiftungen. Unter den Staphylokokken-Erkrankungen des Tieres ist die weitverbreitete und schwer zu bekämpfende Staphylokokkenmastitis des Rindes zu einem Problem geworden. Den in Kuhmilch vorkommenden koagulasepositiven Staphylokokken kommt deshalb eine beträchtliche hygienische Bedeutung zu.

In der vorliegenden Arbeit wurden Typenbestimmungen von *Staphylococcus aureus*-Stämmen vorgenommen, die aus steril entnommenen Viertelgemelkproben verschiedener Rinderherden Oberbayerns isoliert wurden. Neben anderen biologischen Reaktionen kam auch die Lysotypie zur Anwendung. Es sollte festgestellt werden, welche Lysisbilder und welche Kombinationen bestimmter biologischer Merkmale bei den *Staphylococcus aureus*-Stämmen aus den einzelnen Herden zu finden sind, um Aufschlüsse über die epidemiologische Zusammengehörigkeit zu bekommen.

II. S C H R I F T T U M

A. Klassifizierung der gram- und katalasepositiven Kokken

Zur Klassifizierung von gram- und katalasepositiven Kokken werden von einzelnen Autoren verschiedene Systeme vorgeschlagen (SHAW et al. 1951, EVANS et al. 1955, BREED et al. 1957, HILL 1959, POHJA 1960, BAIRD-PARKER 1963 u. a.). Einige Untersucher teilen diese Keime einer Gattung zu, andere wieder zwei oder mehreren Gattungen.

SHAW et al. (1951) ordnen alle Stämme mit den angegebenen Merkmalen dem Genus *Staphylococcus* zu.

EVANS et al. (1955) und HILL (1959) schlagen eine Aufteilung des Genus *Staphylococcus* von SHAW et al. mit Hilfe der Glucosespaltung in die Genera *Staphylococcus* und *Micrococcus* vor. *Staphylococcus*-Species spalten Glucose anaerob, *Micrococcus*-Species dagegen nicht.

EVANS et al. (1955) empfehlen auf Grund der Untersuchungen von EVANS (1947, 1948), koagulasepositive und -negative, gram- und katalasepositive Kokken mit Hilfe der anaeroben Glucosespaltung den Genera *Staphylococcus* oder *Micrococcus* zuzuordnen.

Auf diese Klassifizierungsmethode griffen BREED et al. (1957) in BERGEY'S MANUAL of determinative bacteriology zurück. Danach sind die aeroben und fakultativ anaeroben gram- und katalasepositiven Kokken der Familie Micrococcaceae zugeordnet, die neben anderen in die Genera *Staphylococcus* und *Micrococcus* gegliedert wird. Die koagulase- und anaerob mannitpositiven Stämme werden zur Species *Staph. aureus*, die koagulase- und mannitnegativen zur Species *Staph. epidermidis* vereinigt. Zur Gattung *Micrococcus* rechnet man die Kokken, die nicht anaerob Glucose vergären können.

THATCHER und SIMON (1957) und GRAVIE et al. (1961) kritisieren dieses Klassifizierungssystem.

Erstere fanden, daß alle von ihnen untersuchten Micrococcaceae-Stämme Glucose aerob und anaerob zu fermentieren vermochten.

GRAVIE et al. berichteten, daß sie koagulasepositive Staphylokokken fanden, die Glucose anaerob nicht spalten konnten. BAIRD-PARKERS Untersuchungen

von 1962 dagegen bestätigen die Ergebnisse von EVANS et al. (1955). Er teilte 1250 gram- und katalasepositive Kokkenstämme in drei Gruppen ein, Gruppe 1 entspricht dem Genus Staphylococcus, Gruppe 2 dem Genus Micrococcus, Gruppe 3 dem Genus Sarcina. Gruppe 1 und 2 unterteilte er in Subgruppen.

Trotz der verschiedenen Auffassungen über die Klassifizierung dieser Keime herrscht in der Abgrenzung von Staph. aureus mit Hilfe der Koagulasereaktion Übereinstimmung (EVANS und NIVEN 1950, SHAW et al. 1951).

Neben der Bedeutung der Koagulasereaktion für die Klassifizierung ist diese Reaktion auch ein wichtiger Test zur Pathogenitätsbestimmung von Staphylokokken.

V. DARANYI (1926), EPSTEIN (1934), FISHER (1936), SMITH (1954), CLAPPER und WOOD (1954), COWAN (1955), ANDERSON (1956), KIELWEIN (1960), GRÜN (1961a), KIMLER (1962), MORRISON et al. (1961) u. a. bezeichnen den Koagulasetest als leichte, exakte und verlässliche Methode zur Pathogenitätsbestimmung von Staphylokokken in vitro. Pathogene Staphylokokken besitzen somit im allgemeinen die Fähigkeit, Plasma zu verklumpen, apathogene können das nicht.

B. Hygienische Bedeutung boviner Staph. aureus-Stämme

1. Eitererreger beim Menschen

V. DARANYI (1926) erkannte, daß koagulasepositive Staphylokokken beim Menschen pyogene Prozesse verursachen können, koagulasenegative Stämme dagegen nicht.

Staph. aureus-Stämme verursachen beim Menschen hauptsächlich Muskelabszesse, Anginen, Osteomyelitiden und Nierenerkrankungen, um nur einige Krankheiten zu nennen.

ECKERT stellte 1959 fest, daß alle Mitglieder einer Bauernfamilie, die hauptsächlich Rohmilch aus einem staphylokokkeninfizierten Bestand tranken, dauernd unter Anginen litten. Nach Sanierung des Milchviehbestandes traten keine Anginen mehr auf.

Auch WALLACE et al. (1962) beschrieben Staphylokokkeninfektionen beim Menschen, die durch Rohmilch von Mastitis-Kühen hervorgerufen wurden.

2. Enterotoxinbildner

Enterotoxin ist ein relativ thermostabiles "Gift", das der Einwirkung von 95°C 30 Minuten lang widersteht (WORMS 1960). Enterotoxin, das fast nur von koagulasepositiven Staphylokokken gebildet wird, ruft dem Botulismus ähnliche Vergiftungen hervor (MEYER 1962). Durch Zufuhr von Enterotoxin kommt es in kurzer Zeit zu Durchfällen, Erbrechen, Kopfschmerzen und anderen Allgemeinerscheinungen (GRÜN 1964).

Die Mitteilungen von ALLISON (1949), COLES und EISENSTARK (1959), OBIGER (1960) und WORSECK et al. (1960), die in Rohmilch Enterotoxin-bildende Staphylokokken fanden, sind deshalb von größter Bedeutung.

MANN (1960), GALTON und STEELE (1961), PAGANO et al. (1962) und WALLACE et al. (1962) kultivierten aus Milch den für den Menschen besonders virulenten Staphylokokken-Typ "80/81". Auf Grund dieser Untersuchungen und im Hinblick auf die in den letzten zwei Jahrzehnten immer mehr zunehmende Staphylokokken-Mastitis (McCULLOCK 1946, KÄSTLI und BINZ 1948, SCHALM und WOODS 1953, FEILS 1957, KREBS 1960, RENK 1961, WILSON und DAVIDSON 1961, CZERNICKI 1961) fordert OBIGER (1960) bei Milchkontrollen entschieden eine Berücksichtigung der Staphylokokken.

C. Differenzierung von koagulasepositiven Staphylokokken

Zur Differenzierung von koagulasepositiven Staphylokokken können folgende Eigenschaften herangezogen werden: Die fermentativen Leistungen, das Antibiogramm, die Lysotypie und die serologischen Reaktionen.

1. Fermentative Leistungen

Erythrozyten verschiedener Säugetierarten werden durch bestimmte Staphylokokken-Fermente, Hämolysine, aufgelöst. Das alpha-Hämolysin wird sowohl von humanpathogenen Staphylokokken als auch von animal-pathogenen Stämmen gebildet (CHRISTIE et al. 1946, SMITH 1947, ELEK und LEVY 1950, EDWARDS und RIPPON 1957, WHITE und McDONALD 1961, WILSON und DAVIDSON 1961 u. a.).

GILLESPIE et al. wiesen 1939 auf Zusammenhänge zwischen α -hämolytischen und koagulasepositiven Staphylokokken hin. 122 von ihnen untersuchte koagulasepositive Staphylokokken waren auch alpha-Lysinbildner.

GLENNY und STEVENS (1935) fanden ein zweites Toxin, das beta-Hämolysin. Es unterscheidet sich von alpha-Lysin dadurch, daß es Menschen- und Kaninchenerythrozyten nicht zu lösen vermag (MARK und VAUGHAN 1950, ELEK und LEVY 1950).

Im Gegensatz zu humanen sind animale pathogene Staphylokokken häufig beta-Lysinbildner (GLENNY und STEVENS 1935, BRYCE und ROUNTREE 1936, CHRISTIE et al. 1946, SMITH 1947, ELEK und LEVY 1950, LEVY et al. 1953, PAPA VASSILIOU und OBIGER 1959, WHITE und McDONALD 1961 u. a.).

CHRISTIE et al. (1946) fanden unter 117 tierpathogenen Staphylokokken 78, 6% alpha-Hämolysinbildner und 68, 3% beta-Hämolysinproduzenten.

SMITH (1947) untersuchte 110 pathogene Tierstämme. Davon waren 70% α -hämolytisch und 91, 8% β -hämolytisch.

ELEK und LEVY (1950) testeten 59 animale Staphylokokken, von denen 74% α - und 78% β -Hämolysen aufwiesen.

Die anderen oben aufgeführten Untersucher kamen zu ähnlichen Ergebnissen.

Die Untersuchung pathogener Menschenstämme auf beta-Hämolysinbildner ergab ein anderes Bild. GILLESPIE et al. (1939) fanden bei 112 Stämmen keine beta-Lysinbildner.

CHRISTIE et al. (1946) konnten unter 700 pathogenen Menschenstämmen nur 9, 6% und ELEK und LEVY (1950) unter 223 nur 10% β -hämolytische Stämme finden.

WILLIAMS und HARPER differenzierten 1947 das delta-Toxin. Es löst sowohl Menschen- als auch Tiererythrozyten auf, wobei es jedoch CO_2 -abhängig ist (MARK und VAUGHAN 1950, ELEK und LEVY 1950).

Dieses Ferment wird von Tier- und Menschenstaphylokokken gebildet (ELEK und LEVY 1950, HINTON und ORR 1957).

Ein anderes Staphylokokkenferment, Lipase, soll Fette in Glycerin und Fettsäuren spalten. Staphylokokken-Lipase wird mit Hilfe der Eigelbreaktion nachgewiesen. GILLESPIE und ALDER (1952) führten diese Reaktion erstmals durch. Sie fanden 63% der getesteten 138 koagulasepositiven Staphylokokkenstämme auch lipasepositiv und wiesen auf die Brauchbarkeit dieses Tests zur Typisierung hin.

MARKUSE (1960) empfiehlt ebenfalls den Eigelbtest zur Differenzierung von in Lysisbild und Antibiotogramm konstanten Stämmen.

1953 wiesen ALDER et al. darauf hin, daß 84,1% der von ihnen untersuchten pathogenen Menschenstämme lipasepositiv waren, dagegen nur 15,3% der getesteten tierpathogenen Stämme. Eine Übereinstimmung von Koagulasereaktion und Eigelbtest konnte von diesen Untersuchern nicht festgestellt werden.

MEYER (1962) bezeichnet ebenfalls die meisten bovinen Staphylokokken als lipasenegativ.

Nach ALDER et al. (1955) konnte die Eigelbreaktion in keinen Zusammenhang mit der Herkunft der getesteten Stämme gebracht werden.

Pathogene Staphylokokken sollen die Fähigkeit besitzen, aus Zuckern Säure zu bilden. Von vielen Autoren wird deshalb die aerobe Mannitfermentierungsreaktion zur Unterscheidung von pathogenen und apathogenen Staphylokokken herangezogen (ELEK und LEVY 1950, ROEMER und SCHMITZ 1951, SCHAACK 1955, GRÜN 1957 und 1958, BURNS und HOLTMAN 1960, KIELWEIN 1960 u. a.).

CHAPMAN (1945) empfiehlt zur Isolierung von Staphylokokken und zur Prüfung des Spaltungsvermögens gegenüber Mannit den Mannitol Salt Agar.

EVANS (1948) gibt an, daß mit der anaeroben Mannitfermentierung bessere Ergebnisse zu erzielen sind als mit der aeroben, da im allgemeinen nur die koagulasepositiven Stämme die Eigenschaft besitzen, Mannit anaerob enzymatisch zu spalten.

Einen Überblick über die Ergebnisse der Mannitreaktionen von verschiedenen Untersuchern gibt folgende Tabelle:

Verfasser	Jahr	koagulasepositive Staphylokokken		koagulasenegative Staphylokokken	
		unters. Staph.	dav. mannit+	unters. Staph.	dav. mannit+
CHRISTIE et al.	1946	817	811	210	55
PÖHN	1958	100	100	49	5
FINK	1961	61	52	39	8
JEFFRIES	1961	233	214	261	46
GRÜN	1961a	260	253	111	49

PULVERER (1963) bestätigt die Ergebnisse von EVANS (1948). Weiterhin fand er, daß nicht alle pathogenen Staphylokokken fähig sind, unter aeroben und anaeroben Bedingungen Mannit zu spalten. Von 89 pyogenen Rinderstaphylokokken fand er nur 84 aerob und 75 anaerob positive, von insgesamt 150 pyogenen Tierstaphylokokken fand er 141 aerob mannitpositive und 123 anaerob mannitpositive.

Als eine weitere Differenzierungsmöglichkeit für koagulasepositive Staphylokokken beschreibt EPSTEIN (1934) den Kristallviolett-Test.

Die Staphylokokken verhalten sich auf kristallviolett haltigen Nährböden verschieden. Manche Stämme wachsen auf solchen Böden schlecht, während andere gutes Wachstum mit verschiedener Pigmentierung aufweisen.

EPSTEIN (1934) unterteilt die von ihm getesteten Staphylokokken in zwei Gruppen.

CHAPMAN und BERENS (1935) unterscheiden drei Gruppen nach der Pigmentbildung.

KLASTRUP (1955) teilt die Staphylokokken in fünf Gruppen ein.

MEYER (1962) versucht den Kristallviolett-Test zur Unterscheidung von humanen pathogenen und animalen Staphylokokken heranzuziehen.

Die Plasmaagglutination entspricht im Prinzip dem Koagulasetest (BIRCH-HIRSCHFELD, 1934).

Auch SMITH (1954), ROEMER und SCHMITZ (1951) und GRÜN (1961a) setzen die Ergebnisse dieser Reaktion denen des Koagulasetests gleich.

Dagegen wenden sich FEILS (1957) und FINK (1961). Beide Untersucher stellten fest, daß die Ergebnisse der Plasmaagglutination mit den Ergebnissen der Koagulasereaktion nicht immer übereinstimmen.

MOREIRA-JAKOB (1953) beschrieb den Nachweis von Staphylokokken-Reduktase mit Methylenblau als Indikator. Er bezeichnete diese Reaktion als relativ sichere Methode, pathogene von apathogenen Stämmen zu trennen.

Auch GRÜN (1961a) bezeichnet den Reduktasenachweis als Pathogenitätstest, der dem Koagulasetest kaum nachsteht. 99,5% der 193 getesteten koagulasepositiven Staphylokokken entfärbten Methylenblau im Testmedium innerhalb von 15 Minuten.

PÖHN (1958) dagegen mißt dem Reduktasetest keine Bedeutung zu. Die Ergebnisse sind seiner Meinung nach zu variabel und nicht reproduzierbar.

Auch PLATSCH (1962) bezeichnet den Reduktasetest als nicht vollwertig. Dieser Test kann damit nicht zur Pathogenitätsbestimmung herangezogen werden.

Fibrinolysin ist ein Ferment, das Fibringerinnsel wieder zur Auflösung bringt.

Seit langem wird die Fibrinolysinbildung von Staphylokokken mit ihrer Pathogenität in Zusammenhang gebracht. KLEINSCHMIDT stellte 1909 fest, daß das Fibrinolysevermögen unabhängig von der Koagulaseaktivität der Staphylokokken ist.

FISHERS Untersuchungsergebnisse von 1936 sprechen gegen KLEINSCHMIDT (1909). FISHER fand, daß unter fibrinolysinpositiven Stämmen nie koagulase-negative waren.

Auch CHAPMAN (1942) und CHRISTIE et al. (1946) testeten Staphylokokken

auf Fibrinnährböden. Letztere fanden, daß nur 34 von 684 koagulasepositiven humanen Stämmen, dagegen 108 von 117 tierpathogenen Stämmen kein Fibrinolysin bildeten.

ST.GEORGE et al. (1962) testeten 746 aus Kuhmilch isolierte koagulasepositive Staphylokokken. Von diesen Stämmen waren nur 38 fibrinolysinpositiv.

Daß tierpathogene Staphylokokken fast nie fibrinolytische Wirkung zeigen, erkannten außer CHRISTIE et al. (1946) auch ELEK und LEVY (1950).

Humanpathogene Stämme sind im Gegensatz zu tierpathogenen meist Fibrinolysinbildner.

Nach ANDERSON (1956) sind 70% und nach KAFFKA (1957) sogar 96,4% der von ihnen untersuchten Menschenstämme fibrinolysinpositiv.

2. Antibiotogramm-Bestimmung

Zu den gebräuchlichsten Typisierungsmethoden bei Staphylokokken gehört das Antibiotogramm, die Prüfung der Antibiotikasensibilität.

Staphylokokken neigen offenbar besonders dazu, gegen alle bekannten Antibiotika früher oder später resistente Mutanten zu bilden.

GRÜN (1961a) bezeichnet das Antibiotogramm für die Charakterisierung von pathogenen Staphylokokken als besonders geeignet, da es möglich ist, die Stämme infolge ihrer Resistenz bzw. ihrer Sensibilität in mehrere Gruppen einzuteilen.

MEYER (1962) sieht den Hauptnachteil des Antibiotogramms darin, daß sich nur wenige Typen bestimmen lassen.

PRICE et al. (1954), HOGH (1960), ST.GEORGE et al. (1962) u.a. untersuchten aus Milch isolierte Staphylokokkenstämme mit dem Antibiotogramm.

PRICE et al. (1954) fanden bei Rindern, die häufig mit Penicillin behandelt wurden, eine höhere Resistenz der aus Milch kultivierten Stämme.

St.GEORGE et al. (1962) untersuchten 688 aus Milch isolierte Stämme mit dem Antibiotogramm, 39 Stämme waren gegen Penicillin resistent.

HOGH (1960), der Euterstaphylokokken auf kristallviolettthaltigen Nährböden und auf Penicillinresistenz testete, stellte eine gewisse Abhängigkeit zwischen resistenten Staphylokokken und auf kristallviolettthaltigen Böden violett wachsenden Stämmen fest. 22,7% derselben waren penicillinresistent, während nur 3,7% der gelben und 6,7% der weiß wachsenden Kolonien Penicillinresistenz aufwiesen.

GILLESPIE und ALDER (1952), PARKER (1958) und JESSEN et al. (1959) teilten Befunde mit, nach denen penicillinresistente Staphylokokken häufiger eigelbnegativ sind als penicillinsensible.

Bei Gegenüberstellung der Antibigramm-Muster mit der Phaggruppenzugehörigkeit und der Seroformel beobachtete PULVERER (1961) Zusammenhänge. Die einfach bzw. mehrfach resistenten Staphylokokken gehören hauptsächlich den Phaggruppen I und III sowie I/III an und besitzen meist die Antigenformel "abce" oder "abc".

3. Lysotypie

Unter Lysotypie wird die Typisierung von Bakterien mit Hilfe von Viren (Bakteriophagen) verstanden.

Das Prinzip der Lysotypie beruht darauf, daß Phagen sich an der Oberfläche sensibler Staphylokokken festsetzen und die Zellen infizieren. Sichtbare "Löcher" im Bakterienrasen zeigen dann an, daß der getestete Stamm phagempfindlich war, d.h. die Phagen haben sich im Zellinnern vermehrt und die Keime zerstört.

Die heute gebräuchliche Staphylokokken-Lysotypie geht auf Untersuchungen von FISK (1942) zurück. Er wies darauf hin, daß die selektive Phagenwirkung eine Unterteilung pathogener Staphylokokken ermöglicht.

WILLIAMS u. ATKINSON (1945) bauten die Methode von FISK (1942), der die Phagen konzentriert verwandte, aus. Sie wiesen darauf hin, daß die Phagen in austitrierten Verdünnungsstufen benutzt werden können. Es gelang ihnen, 382 von 460 untersuchten Staphylokokkenstämmen zu typisieren.

Mit Hilfe dieser Methode zeigte SMITH (1948a, 1948b), daß ein Großteil der Staphylokokken lysogen ist. Er brachte Lysogenität mit der Phagresistenz verschiedener Staphylokokken in Zusammenhang.

Als Grundlage der heute allgemein gebräuchlichen Technik gilt die Mitteilung von WILLIAMS und RIPPON (1952). Sie beobachteten, daß bestimmte Phagen gemeinsam in Phagbildern vorkommen können und stellten auf dieser Basis drei Phaggruppen auf.

Nach den Empfehlungen des Internationalen Subkomitees für Staphylokokken-Lysotypie (BLAIR und WILLIAMS 1961, INTERNATIONAL COMMITTEE on phage typing of staphylococci 1959), wird zur Typisierung ein Basissatz von 21 verschiedenen Staphylokokken-Phagen benutzt.

Neben diesem international standardisierten Basissatz können noch die Phagen 812 und 825 oder andere Zusatzphagen mitberücksichtigt werden (MILCH 1960, POPOVICI et al. 1961). Rinderstaphylokokken wurden von NAKAGAWA (1960), MANN (1960), DAVIDSON (1961 a), SLANETZ und BARTLEY (1962), WALLACE et al. (1962), DAVIDSON (1965) und GEDEK (1966 a) mit den Bakteriophagen des Basissatzes bzw. Zusatzphagen typisiert. Die Untersucher zeigten, daß Rinderstaphylokokken mit den Phagen des Basissatzes allein nur zum Teil typisierbar sind.

Die meisten typisierbaren Stämme gehören zur Phaggruppe III (THÖRNE und WALLMARK 1960, PAPA VASSILIOU und OBIGER 1959, NAKAGAWA 1960 a und 1960 b) oder zum Phagtyp "42 D" der Phaggruppe IV (ALLISON 1949, COLES und EISENSTARK 1959, EDWARDS und RIPPON 1957, HOFFMANN 1959, MANN 1960, NAKAGAWA 1960 a und 1960 b, GEDEK 1966 a).

GEDEK (1966 a) benutzt zur Testung von Rinderstämmen (Staph. aureus-Stämme) Phagen des Basissatzes, Zusatzphagen und von DAVIDSON (1961 a) isolierte Phagen.

4. Serologie

COWAN (1938/1939) gelang es, nach vorhergehenden Untersuchungen von KOLLE und OTTO (1902) und PRÖSCHER (1903), eine reproduzierbare serologische Methodik, die Objektträger-Agglutination, mit adsorbierten Immunsereen zu entwickeln, um Staphylococcus aureus-Stämme zu differenzieren. Er teilte die pathogenen Staphylokokken in drei Gruppen ein.

CHRISTIE und KEOGH (1940) erhöhten die Typenzahl auf neun, HOBBS (1948) auf insgesamt 13 Gruppen.

Auf Grund dieser Erkenntnisse wies OEDING (1952) mit adsorbierten Faktorenseren zehn Antigene nach, die er mit den kleinen lateinischen Buchstaben "a" - "k" bezeichnete.

1958 und 1961 b fand GRÜN noch die Antigene "l", "o", "p" und 1960 HAUKENES und OEDING "m" und "n".

Die Antigene "a", "b", "c" und "e" werden zur Gruppendiagnostik und die Antigene "f" - "p" für Typendiagnostik verwendet.

Mit Hilfe der serologischen Differenzierungsmethode von OEDING (1953 a, 1953 b, 1954, 1960) und GRÜN (1957, 1958 a, 1958 b, 1959) wurden auch Rinderstaphylokokken erfaßt (OEDING und VOGELSSANG 1954, GRÜN 1958 b, ISCHII 1960 u. a.).

Bei einer Gruppendifferenzierung von 854 Stämmen fand OEDING (1954) folgende Antigenkombinationen: a b c (31,9%), a b c e (13,7%), a b (11,4%), a b e (13,1%). Diese Gruppen umfassen 80% aller pyogenen Staphylokokken.

III. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

A. Material

2796 Viertelgemelkproben von 700 laktierenden Kühen aus 45 verschiedenen Herden Oberbayerns wurden in der Zeit von August bis Oktober 1964 entnommen und bakteriologisch untersucht.

B. Methodik

1. Entnahme und bakteriologische Untersuchung der Viertelgemelkproben beim Rind

Die Viertelgemelkproben wurden nach der Methode von DIERNHOFER (1950) entnommen. Als Desinfektionsmittel wurde 70%iger vergällter Äthylalkohol verwendet. Vor der Probeentnahme wurden ein bis zwei Strahlen Milch aus jedem Euterviertel abgemolken. Nach der Desinfektion der Zitzenkuppen wurden jeweils ungefähr zehn ml Milch pro Euterviertel in die schräg gehaltenen sterilen Röhrchen eingemolken. Die so entnommenen Proben wurden auf 4°C heruntergekühlt und innerhalb von 24 Stunden untersucht. Mit einer standardisierten, 0,01 ml Milch fassenden Öse wurde von jeder Probe gut durchmischte Milch auf je ein Viertel einer Blutplatte ausgestrichen und 36 - 48 Stunden bei 37°C bebrütet. Der Blutagar bestand aus Tryptose Blood Agar Base (Difco) mit einem Zusatz von 7% gewaschenen Rindererythrozyten. Schüttelblut vom Rind wurde zehn Minuten lang bei 3000 U/min. zentrifugiert, das Serum abgesaugt und durch physiologische Kochsalzlösung ersetzt. Die physiologische Kochsalzlösung wurde jeweils nach dem Zentrifugieren so lange erneuert, bis der Überstand klar blieb.

2. Identifizierung von Keimen der Familie Micrococcaceae Pribram 1929

Für die Untersuchungen wurden nur Kolonien von solchen Keimen ausgesucht, die gram- und katalasepositiv waren und die in Kokkenform wuchsen. Nach BERGEY'S MANUAL (BREED et al, 1957) sind diese Stämme der Familie Micrococcaceae Pribram 1929 zuzuordnen. Es wurden nur Ausstriche berücksichtigt, auf denen mehr als drei Kolonien dieser Keime in Reinkultur wuchsen.

Die Gramfärbung wurde nach der von HALLMANN (1961) aufgeführten Originalmethode durchgeführt.

Der Katalasenachweis erfolgte nach der von ISAACS und SCOLLER (1948) angegebenen Schnellmethode. Von 24 Stunden alten Agarkulturen wurde Material in einen Tropfen 10%ige Wasserstoffperoxyd-Lösung verrieben und die Entwicklung von Gasblasen als positive Reaktion notiert.

Um die ausgewählten Stämme rein zu züchten, wurden sie in 24stündigem Abstand insgesamt dreimal auf Blutagar überimpft. Es wurde immer nur so viel Material abgeimpft, daß Einzelkolonien zu erkennen waren.

3. Abgrenzung koagulasepositiver Micrococcaceae von den koagulasenegativen

Eine Abtrennung der koagulasepositiven von den koagulasenegativen Staphylokokken erfolgte mit Hilfe der anaeroben Glucosefermentierung, dem Koagulasenachweis und der anaeroben Mannitfermentierung.

Die anaerobe Glucosefermentierung wurde in einem Nährmedium folgender Zusammensetzung durchgeführt (Methode von EVANS 1948):

Fleischextrakt (Liebig, Köln)	0, 3 g
tryptisch verdautes Pepton (Merck, Darmstadt)	0, 5 g
d-Glucose (Merck, Darmstadt)	0, 5 g
Bromkresolpurpur (Merck, Darmstadt)	0, 004 g
Aqua dest.	ad 99 ml

Das Bromkresolpurpur wurde in 96%igem Äthylalkohol gelöst der Nährbouillon zugesetzt.

In Agglutinationsröhrchen wurden jeweils 0, 5 ml verflüssigtes Paraffin-Vaseline-Gemisch einpipettiert und darauf 2, 5 ml der beschriebenen Glucose-Bouillon gegeben. Durch jeweils 30 Minuten langes Erhitzen im Dampftopf an drei aufeinanderfolgenden Tagen wurde die Glucose-Bouillon sterilisiert. Danach wurde diese Bouillon, die mit einem 5 mm dicken Paraffin-Vaseline-Pfropf luftdicht abgeschlossen war, auf folgende Weise beimpft: Der Paraffin-Vaseline-Pfropf wurde über der Sparflamme des Bunsenbrenners so lange erwärmt, bis er verschieblich war und die Bouillon mit der Öse beimpft werden konnte. Die Normalöse mit dem Keimmaterial durfte dabei das heiße Paraffin-Vaseline-Gemisch nicht berühren. Nach der Beimpfung wurde der Paraffin-Vaseline-Pfropf so lange erwärmt, bis er wieder geschlossen über der Bouillon lag. Die Bebrütungszeit betrug zehn Tage bei 30°C. Die Farbveränderungen der Bouillon wurden täglich beobachtet. Eine Gelbfärbung der Bouillon innerhalb von zehn Ta-

gen wurde als positiv, eine rötlich-gelbe Färbung mit $\pm$ und kein Farbumschlag als negativ bezeichnet.

Herstellung des Paraffin-Vaseline-Gemisches:

1 Teil Vaselinum flavum americanum filtrat. (Type "Standard"

Marke, Mainland) und

9 Teile Blockparaffin (Sp. 52° - 53° , Merck, Darmstadt)

wurden verflüssigt und gut durchmischt.

Die Koagulasereaktion wurde nach der von GRÜN (1961 a) angegebenen Methode durchgeführt.

Zum Koagulasenachweis wurde Kaninchen-Zitratplasma verwendet (1 ml einer 5%igen Natriumzitratlösung zu 5 ml Kaninchenblut). In Teströhrchen mit 0,3 ml Plasma wurde jeweils eine Agar-Kolonie überimpft. Bei einer Bebrütungstemperatur von 37°C wurde nach der 1., 2., 3., 4. und 24. Stunde abgelesen. Die Gerinnung des gesamten Plasmas wurde mit $+$, ein kleines Koagulum mit $\pm$ und flüssiger Inhalt des Röhrchens mit $-$ bezeichnet. Die Reaktion $\pm$ wurde als koagulasepositiv gewertet.

Die Fermentierung von Mannit wurde in gleicher Weise getestet wie die von Glucose. An Stelle der Glucose wurde d-Mannit (Merck, Darmstadt) in der gleichen Konzentration verwendet.

4. Aufbewahrung der Stämme

Die koagulasepositiven Staphylokokken mußten längere Zeit aufbewahrt werden. Dazu wurde von den Subkulturen jeweils eine Kolonie eines Stammes auf Schrägagar überimpft und 16 Stunden bei 37°C bebrütet. Um den Luftzutritt zu verhindern, wurden die Korkverschlüsse der Schrägagar-Röhrchen in heißes Paraffin getaucht und fest auf die Röhrchen aufgesetzt. Die Kulturen lagerten bei Raumtemperatur.

Herstellung des Schrägagars:

20 g Kobe-I-Agar werden in 500 ml Aqua dest. eingeweicht. Nach 12 Stunden wird das Wasser abgegossen und die abgeschüttete Menge durch frisches destilliertes Wasser ersetzt. Dazu werden 500 ml einer Bouillon folgender Zusammensetzung gegeben:

Fleischextrakt (Liebig, Köln)	10 g
tryptisch verdautes Pepton (Merck, Darmstadt)	10 g
Kochsalz	5 g
Aqua dest.	ad 500 ml

Der pH-Wert wird auf 8,0 eingestellt. Die Bouillon wird bis zur Ausflockung erhitzt, durch ein Faltenfilter filtriert und mit Aqua dest. auf 500 ml aufgefüllt.

Der gewässerte Kobe-I-Agar und die zugegebene Bouillon werden 30 Minuten autoklaviert, anschließend durch sterile Watte filtriert und in Portionen zu 4,5 ml in Reagenzgläser abgefüllt. Der abgefüllte Agar wird nochmals zehn Minuten autoklaviert. Die Reagenzgläser werden bei einer Temperatur von ungefähr 50°C schräggestellt.

5. Differenzierung der koagulasepositiven Staphylokokken

Für sämtliche Versuche zur Differenzierung der koagulasepositiven Keime wurde von den Schrägagarkulturen soviel Material auf Blutagar-Platten abgeimpft, daß Einzelkolonien entstanden. Jede Testung wurde mit Kulturen gleichen Alters durchgeführt.

a) Hämolysinbildung

Das Hämolyisierungsvermögen wurde auf Rinderblutagar getestet und wie folgt notiert:

- Typ 0: ohne Hämolyse
- Typ 1: Hämolysezone in einer Ausdehnung bis zu 1 mm vom Kolonierand
- Typ 2: Hämolysezone in einer Ausdehnung von 1-2 mm vom Kolonierand
- Typ 3: sehr starke Hämolysezone > 2 mm
- Typ 4: β -Hämolyse (hot-cold-lysis)

b) Eigelbtest

Zur Differenzierung wurde der Eigelb-Plattentest, wie GRÜN (1961 a) ihn beschreibt, angewendet.

Der Nährboden wurde aus frischem sterilem Eigelb, steriler physiologischer Kochsalzlösung und Nutrient Agar (Oxoid), der auf 56°C abgekühlt war, hergestellt.

Ein Teil Eigelb-Kochsalzlösung (gleiche Teile Eigelb und gleiche Teile physiologische Kochsalzlösung) und 10 Teile Nähragar wurden gemischt und in plane Petrischalen 2 mm hoch gegossen. Die Beimpfung der Platten erfolgte sektorenweise mit einer Aufschwemmung der Staphylokokken in physiologischer Kochsalzlösung. Die Bebrütungszeit betrug 24 Stunden bei 37°C. Es wurden nur Einzelkolonien beurteilt. Zeigten sich um die Einzelkolonien breite durchsichtige Zonen, so waren die Stämme positiv. Eine schmale durchsichtige Zone bis zu 1 mm vom Kolonierand wurde mit $\pm$ bezeichnet. Negative Stämme veränderten den Nährboden nicht.

c) Aerobe Mannitfermentierung

Die aerobe Mannitfermentierung wurde auf Mannitol Salt Agar (Difco) nach CHAPMAN (1945) getestet. Die beimpften Mannitplatten wurden 24 Stunden bei 37°C bebrütet.

Ein Farbumschlag des als Indikator verwendeten Phenolrots nach gelb wurde als positiv beurteilt.

d) Kristallviolett-Test

Der Kristallviolett-Nährboden wurde aus Tryptose Agar (Difco) und Kristallviolett (Merck, Darmstadt) hergestellt. Kristallviolett wurde dem Nähragar in einer Menge zugesetzt, daß die Verdünnung von 1 : 300 000 vorlag (KLAstrup 1955). Von den Blutagar-Kulturen wurde Keimmateriel in reichlicher Menge strichförmig auf die Testplatten überimpft. Die Bebrütungszeit betrug 48 Stunden bei 37°C.

Wachstum und Farbe der zu testenden Stämme waren bei der Beurteilung maßgebend. Gelb gefärbte Kolonien oder gelbe mit violettgefärbtem Rand wurden mit "g", weiße bis weißbläuliche Kolonien mit "w" und violett bis blaviolett wachsende Stämme mit "v" bezeichnet.

e) Plasmaagglutination

Für die Plasmaagglutination wurde Rinderplasma von sechs verschiedenen Tieren nebeneinander verwendet.

Auf eine Glasplatte wurde mit einer Öse ein Tropfen Plasma gebracht und ein Viertel Normalöse Keimmateriel direkt eingerieben.

Als positiv wurden die Reaktionen bezeichnet, wenn bei Berührung der Keime mit dem Plasma eine sofortige grobe Verklumpung eintrat und die Klümpchen sich nicht mehr zerreiben ließen. Eine sofort einsetzende feinflockige Trübung des Plasmas wurde mit + bezeichnet. Negativ waren die Stämme, die innerhalb von 30 Sekunden das Plasma nicht veränderten.

f) Reduktase-Test

Das Reduktasebildungsvermögen wurde nach GRÜN (1961 a) im flüssigen Nährmedium getestet.

In jeweils 5 ml einfacher Fleischbrüהלösung (Nutrient Broth, Oxoid) wurden die Teststämme überimpft und bei 37°C 24 Stunden lang bebrütet. In die auf Zimmertemperatur abgekühlten Reagenzgläser wurden jeweils aus einer 2 ml-Pipette zwei Tropfen einer 1%igen Methylenblaulösung (Merck, Darmstadt) gegeben. Zwei Tropfen entsprachen 0,14 ml (durch Wägung ermittelt). Die Reagenzgläser wurden in ein Wasserbad von 37°C gestellt. Nach der 10., 15., 20., 25. und 30. Minute wurden die Reaktionen abgelesen.

Nach der Methodik von GRÜN (1961 a) gelten die Stämme, die nach 15 Minuten keine Entfärbung hervorriefen, als negativ, die anderen als positiv.

g) Fibrinolyseinbildung

Die Fibrinolyse-Reaktion wurde nach CHAPMAN (1942) durchgeführt. Das verwendete Nährmedium bestand aus:

Fleischextrakt (Liebig, Köln)	0,45 g
Bacto-Pepton (Difco)	0,75 g
Kochsalz	1,2 g
Kobe-I-Agar	2,25 g
Aqua dest.	ad 130 ml

Dieses Medium wurde auf einen pH-Wert von 7,0 eingestellt und autoklaviert. Nachdem der Agar auf ungefähr 50°C abgekühlt war, wurden 20 ml Plasma (20 mg Natrium-Oxalat zu 15 ml Rinderblut) unter Schütteln zugesetzt. Dieses Agar-Plasma-Gemisch wurde dann für 5 Minuten im Wasserbad auf 60°C erhitzt, bis das Fibrin ausfiel. Der Fibrinagar wurde dann 5 mm hoch in Petrischalen gegossen und nach Abtrocknung beimpft. Die Bebrütungsdauer betrug 16 Stunden bei 37°C.

Als positiv wurden die Stämme bezeichnet, die um die Kolonien Lysishöfe zeigten. Negativ waren die Stämme, die den Nährboden nicht veränderten.

h) Antibiogramm

Zur Testung der koagulasepositiven Staphylokokken auf ihre Sensibilität gegenüber Antibiotika wurde Sensitivity Test Agar (Oxoid) mit Zusatz von Antibiotika verwendet. 19 ml Nähragar wurden jeweils in große Petrischalen mit 90 mm Durchmesser gegossen. Dann wurden die Antibiotika in einer Menge zugesetzt, daß 1 ml Agar letztlich 1 E Penicillin oder 5 μ Tetracyclin oder 5 μ Erythromycin enthielt.

Herstellung der Antibiotika-Lösungen:

1) Penicillin

Die Penicillinstammlösung enthielt 10 000 E Penicillin in 100 ml Phosphatpuffer m/15, pH = 5, 6⁺). Diese Lösung wurde mit Aqua dest. so verdünnt, daß 1 ml Arbeitslösung 20 E Penicillin enthielt.

2) Tetracyclin

10 mg = 10 000 μ Tetracyclin wurden in 20 ml Phosphatpuffer m/15, pH = 6, 5⁺⁺) gelöst. Diese Stammlösung wurde dann so verdünnt, daß 1 ml Arbeitslösung 100 μ Tetracyclin enthielt.

3) Erythromycin

Als Lösungsmittel wurde Phosphatpuffer m/15, pH = 7, 8⁺⁺⁺) verwendet. Die Herstellung der Arbeitslösung erfolgte wie die der Tetracyclinlösung.

Eine halbe Öse Koloniematerial wurde in 4 ml Nährbouillon überimpft und 16 Stunden bei 37°C bebrütet. Eine Normalöse der bebrüteten Bouillon wurde jeweils auf einem Zwölftel der Platten ausgestrichen. Die beimpften Antibiotikaplatten verblieben 18 Stunden bei 37°C im Brutschrank. Normales Wachstum der Keime auf Penicillinagar wurde mit P, auf Tetracyclinagar mit T und auf Erythromycinagar mit E bezeichnet. Wuchsen auf den Antibiotikaplatten im Vergleich zur Kontrolle nur einige wenige Kolonien, wurden die entsprechenden Stämme zu den antibiotikaempfindlichen Staphylokokken gezählt.

+) 95 ml Lösung I (9,078 g KH_2PO_4 auf 1 l Aqua dest.) + 5 ml Lösung II
(11,1876 g Na_2HPO_4 auf 1 l Aqua dest.)

++) 70 ml Lösung I + 30 ml Lösung II

+++) 8,5 ml Lösung I + 91,5 ml Lösung II

i) Lysotypie

Zur Lysotypie der koagulasepositiven Staphylokokken sind folgende Phagen des Basissatzes, Zusatzphagen^x und von DAVIDSON (1961 a) isolierte Phagen^{xx} benutzt worden:

Gruppe I und verwandte Phagen: 29, 52, 52A, 79, 80, 825^x, 101^{xx}, 110^{xx};

Gruppe III: 6, 42E, 47, 53, 54, 77, 31B^x;

Gruppe IV: 42D, 102^{xx}, 107^{xx}, 108^{xx}, 111^{xx};

Gruppe M: 81;

Gruppe "78": 78^x, 115^{xx}.

Die angereicherten Phagen wurden mir von Herrn Dr. Gedek, München, zur Verfügung gestellt.

Die Typisierung der Staphylokokken wurde nach BLAIR und WILLIAMS (1961) durchgeführt.

Frisch überimpfte Blutagar-Kolonien der verschiedenen Staphylokokkenstämme wurden in sterile Bouillon (Nutrient Broth, Oxoid) überimpft und vier bis sechs Stunden bei 37°C bebrütet. Die Agarplatten wurden mit der bebrüteten Bouillon überschwemmt und der Überstand abpipettiert. Die Trocknung erfolgte unter Öffnung der Petrischalen bei Zimmertemperatur innerhalb einiger Minuten.

Die verwendeten Agarplatten bestanden aus zwei Schichten:

Untere Schicht: ca. 17 ml Blood Agar Base (Oxoid) pro Platte

Obere Schicht: ca. 17 ml Nutrient Agar mit Calcium-Zusatz
(2 ml 1%ige Calciumchlorid-Lösung auf 100 ml Agar).

Der Agar kam nach Erstarrung bei Raumtemperatur für drei Stunden bei halbgeöffneten Petrischalen in den Brutschrank, um die Feuchtigkeit der Agaroberfläche herabzusetzen. Die Phagen des angewendeten Typisiersatzes wurden mit Platinösen (Durchmesser 3 mm) auf den Agar aufgetropft. Die so präparierten Platten wurden dann 18 Stunden bei 30°C bebrütet. Die Reaktionen der Phagen gegenüber den dicht wachsenden Bakterien wurden nach dem von BLAIR und WILLIAMS (1961) angegebenen Schema notiert:

cl = confluent lysis (vollständige Lysis)

lcl = less confluent lysis (unvollständige Lysis, im Auftropfbereich der Phagen befinden sich noch Reste des Bakterienrasens)

++ = > 50 plaques (kleine Phagenlöcher im Bakterienrasen)

+ = 20 - 50 plaques

+ = < 20 plaques

Nur ab ++ Reaktionen wurden die Phagen notiert. Die Reaktionen + und + wurden durch das Zeichen + nach der Aufführung der starken Phagenreaktionen vermerkt.

6. Plasmaagglutination und Hämolysevermögen von koagulasenegativen Micrococcaceae

Die gram- und katalasepositiven, aber koagulasenegativen Kokken wurden mittels Plasmaagglutination und nach ihrem Hämolysevermögen in der oben angegebenen Weise beurteilt.

C. Untersuchungen und Untersuchungsergebnisse

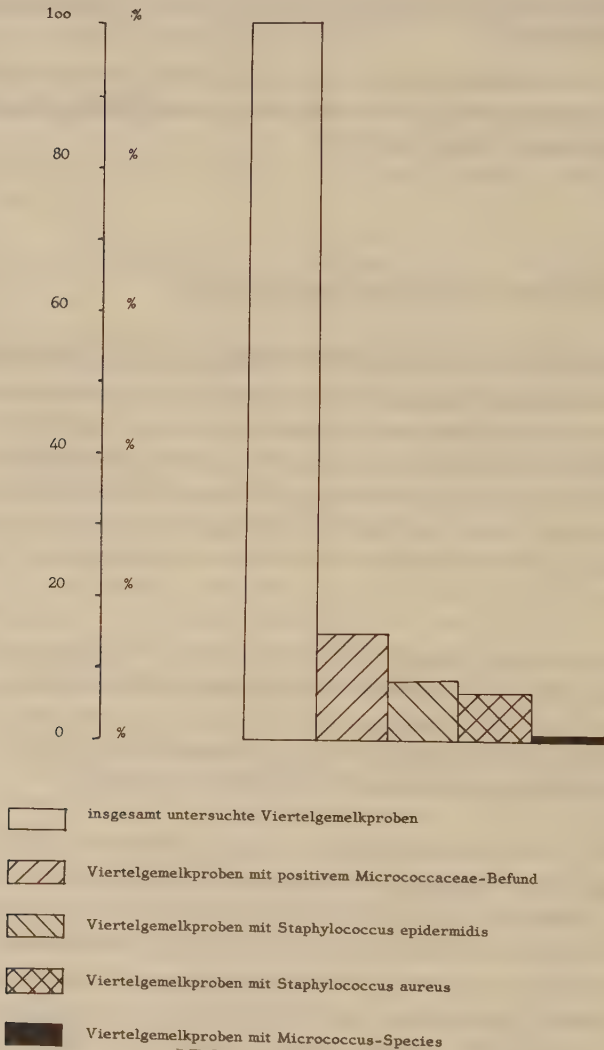
1. Bakteriologische Untersuchungsergebnisse von 2796 Viertelgemelkproben

Aus 417 Viertelgemelkproben von 278 Kühen aus 41 Herden konnten Stämme isoliert werden, die katalase- und grampositiv waren und die in Kokkenform wuchsen. In vier Herden mit insgesamt 25 laktierenden Rindern konnten keine derartigen Keime in den steril entnommenen Viertelgemelkproben nachgewiesen werden. Einen Überblick über die Ergebnisse der bakteriologischen Untersuchung von 2796 Viertelgemelkproben aus 45 Rinderherden zeigt Abbildung 1 Seite 22.

Die Werte lauten im einzelnen: 2796 untersuchte Viertelgemelkproben von 45 Rinderherden; 417 (= 14, 9%) Viertelgemelkproben mit Micrococcaceae-Befund; 213 (= 7, 6%) Viertelgemelkproben mit Staphylococcus epidermidis; 188 (= 6, 7%) Viertelgemelkproben mit Staphylococcus aureus und 16 (= 0, 6%) Viertelgemelkproben mit Micrococcus-Species.

Die 188 koagulasenpositiven Stämme verteilten sich auf 108 Kühe. 59 Tiere wiesen jeweils im Gemelk eines Euterviertels koagulasenpositive Keime auf, 28 in den Gemelken zweier Euterviertel, 12 in denen von drei Eutervierteln und neun in denen von allen Vierteln. Als Staph. aureus wurden im Rahmen dieser Untersuchungen alle gram- und katalasepositiven Kokken, die koagulasenpositiv waren, bezeichnet, unabhängig davon, ob sie auch Mannit anaerob zu spalten vermochten. Ebenso wurde bei Staph. epidermidis die Mannitspaltung unberücksichtigt gelassen.

Abb. 1: Ergebnisse der bakteriologischen Untersuchung von 2796 Viertelgemelkproben aus 45 Rinderherden



Nach BERGEY'S MANUAL (1957) werden alle gram- und katalasepositiven Kokken mit Hilfe der anaeroben Glucosespaltung entweder dem Genus *Staphylococcus* oder *Micrococcus* zugeordnet. Die Koagulasereaktion und die anaerobe Mannitspaltung dienen dazu, die Stämme des Genus *Staphylococcus* in die Species *Staphylococcus epidermidis* und *Staphylococcus aureus* einzuordnen. Tabelle 1 gibt einen Überblick über die Ergebnisse der anaeroben Glucosespaltung, der Koagulasereaktion und der anaeroben Mannitspaltung.

Tabelle 1: Glucosespaltung, Koagulasereaktion und Mannitspaltung der aus 417 Viertelgemelkproben isolierten *Micrococcaceae*-Stämme

Micrococcaceae-Stämme	Glucosespalt. anaerob	Koagulase-reaktion	Mannitspalt. anaerob
165	+	+	+
23	+	+	-
29	+	-	+
184	+	-	-
16	-	-	-

In Abbildung 2 Seite 24 ist das Verhalten der 188 koagulasepositiven und 213 koagulasenegativen Staphylokokken gegenüber d-Mannit unter anaeroben Bedingungen zu ersehen.

2. Differenzierung der koagulasepositiven Staphylokokken

a) Hämolyisierungsvermögen

Das Hämolyisierungsvermögen wurde, wie in der Methodik angegeben, unter standardisierten Bedingungen (gleiche Schichtdicke des Agars, gleiche Bebrütungszeit, gleicher Blutzusatz usw.) beurteilt. Die Ergebnisse sind in Abbildung 3 Seite 25 zusammengefaßt.

Abb. 2: Anaerobe Mannitspaltung der 188 koagulasepositiven und 213 koagulasenegativen Staphylokokken

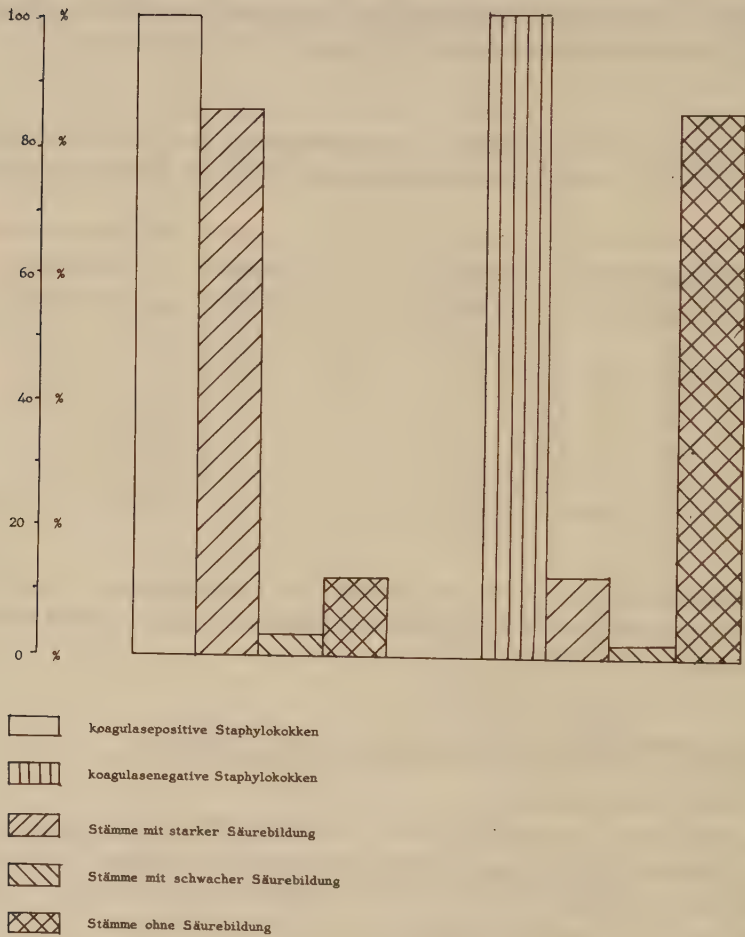
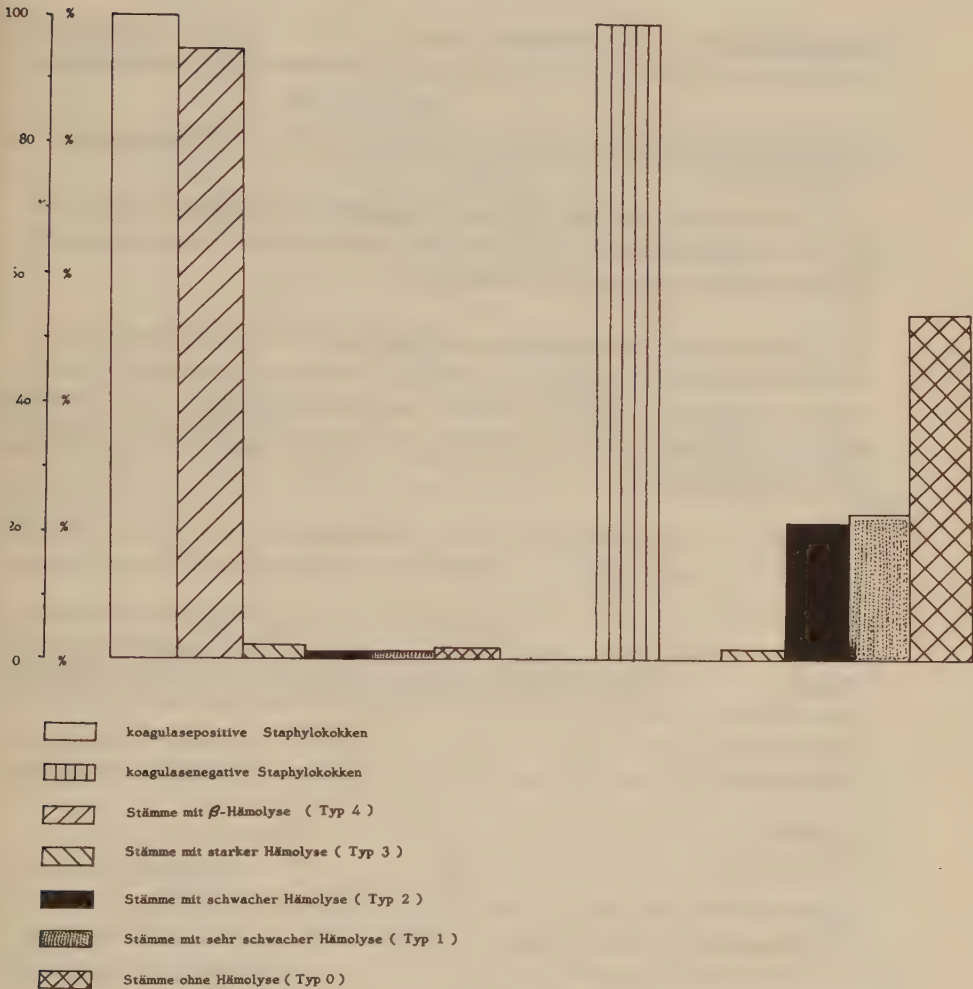


Abb. 3: Hämolyisierungsvermögen der aus 2796 Viertelgemelkproben isolierten 188 *Staphylococcus aureus*- und 213 *Staphylococcus epidermis*-Stämme



Die Werte lauten im einzelnen:

Koagulasepositive Staphylokokken: Typ 4 = 94, 1%, Typ 3 = 2, 1%
 Typ 2 = 1, 1%, Typ 1 = 1, 1%
 Typ 0 = 1, 6%

Koagulasenegative Staphylokokken: Typ 4 = 0, Typ 3 = 1, 4%
 Typ 2 = 21, 6%, Typ 1 = 23, 4%
 Typ 0 = 54, 6%

12 Staphylococcus aureus-Stämme (5, 9%) zeigten keine β -Hämolyse.

Es wurden Versuche über die β -Hämolysinbildung von Staphylokokken auf Agar mit Zusatz von Schüttelblut vom Rind einerseits und von gewaschenen Rindererythrozyten andererseits durchgeführt.

Von jeder von drei Kühen entnommenes Blut wurde defibriniert und zu 7% jeweils unvorbehandelt und nach dreimaligem Waschen der Erythrozyten dem Nähragar zugegeben. Auf diesen sechs Blutagarchargen wurden 18 β -hämolytische Stämme aus 18 Herden ausgestrichen. Tabelle 2 gibt einen Überblick über die Ergebnisse.

Tabelle 2: Hämolysebildung von 18 verschiedenen Staph. aureus-Stämmen aus 18 Herden auf sechs verschiedenen Rinderblutagar-Chargen

Hämolyse- bildung	Anzahl der Stämme auf Agar					
	mit Blut v. Rind A		mit Blut v. Rind B		mit Blut v. Rind C	
	gew. ¹⁾	ungew. ²⁾	gew. ¹⁾	ungew. ²⁾	gew. ¹⁾	ungew. ²⁾
deutliche β -Hämolyse ^{x)}	18	14	18	13	18	15
schwache β -Hämolyse	0	0	0	0	0	1
keine β -Hämolyse	0	4	0	5	0	2

x) hot-cold-lysis

1) Agar + 7% gewaschene Erythrozyten in physiol. Kochsalzlösung

2) Agar + 7% Schüttelblut

18 Stämme auf Platten mit unvorbehandeltem Blut von je drei Kühen zeig-

ten in 11 Fällen keine, in einem Fall schwache β -Hämolyse. Die gleichen Stämme zeigten jedoch auf Agar mit gewaschenen Rindererythrozyten deutliche β -Hämolysezonen.

b) Eigelbtest

Die Ergebnisse des Lipasenachweises mit Hilfe des Eigelbtests zeigt Tabelle 3.

Tabelle 3: Ergebnisse des Lipasenachweises bei 188 Staph. aureus-Stämmen

Staph. aureus-Stämme	Eigelbreaktion		
	+	±	-
188	71	26	91

c) Aerobe Mannitspaltung

Die Fähigkeit, Mannit aerob zu spalten, wiesen 169 (= 89,9%) Staph. aureus-Stämme auf. Die übrigen Stämme waren negativ. Zweifelhafte Reaktionen traten nicht auf.

d) Kristallviolett-Test

Die auf Kristallviolett-Nährböden getesteten Staph. aureus-Stämme wuchsen alle ohne ausgesprochene Hemmung durch das Kristallviolett.

86,7% der 188 Stämme wuchsen gelb- ("g"), 10,1% violett- ("v") und 3,2% weißpigmentiert ("w").

e) Plasmaagglutination

Die Plasmaagglutination stimmte bei 96,8% der Stämme mit den Ergebnissen des Koagulasetests überein. Alle isolierten koagulasepositiven und -negativen Stämme wurden untersucht.

Von allen koagulasepositiven Stämmen waren nur acht (= 4,3%) in der Plasmaagglutination negativ. Von diesen acht Stämmen zeigten drei kein Hämolysevermögen, drei wiesen eine schwache Hämolyse auf und zwei Stämme waren β -Hämolysinbildner. Die Plasmaagglutination wurde mit sechs verschiedenen Plas-

masorten von Rindern durchgeführt. In sieben Fällen zeigte sich im Plasma-agglutinationstest zwischen zwei Plasmasorten eine Differenz zwischen den Reaktionen + und ±.

f) Reduktasetest

40 koagulasepositive Teststämme wurden unter strenger Anlehnung an die von GRÜN (1961 a) beschriebene Methodik auf Reduktasebildung geprüft.

1. Versuch: 9 Stämme entfärbten die Bouillon nach 20 Minuten
 2 Stämme entfärbten die Bouillon nach 25 Minuten
 29 Stämme entfärbten die Bouillon nach 30 Minuten
 und mehr

2. Versuch: 4 Stämme entfärbten die Bouillon nach 10 Minuten
 2 Stämme entfärbten die Bouillon nach 20 Minuten
 2 Stämme entfärbten die Bouillon nach 25 Minuten
 32 Stämme entfärbten die Bouillon nach 30 Minuten
 und mehr

3. Versuch: 3 Stämme entfärbten die Bouillon nach 10 Minuten
 4 Stämme entfärbten die Bouillon nach 15 Minuten
 6 Stämme entfärbten die Bouillon nach 20 Minuten
 28 Stämme entfärbten die Bouillon nach 30 Minuten
 und mehr

g) Fibrinolysereaktion

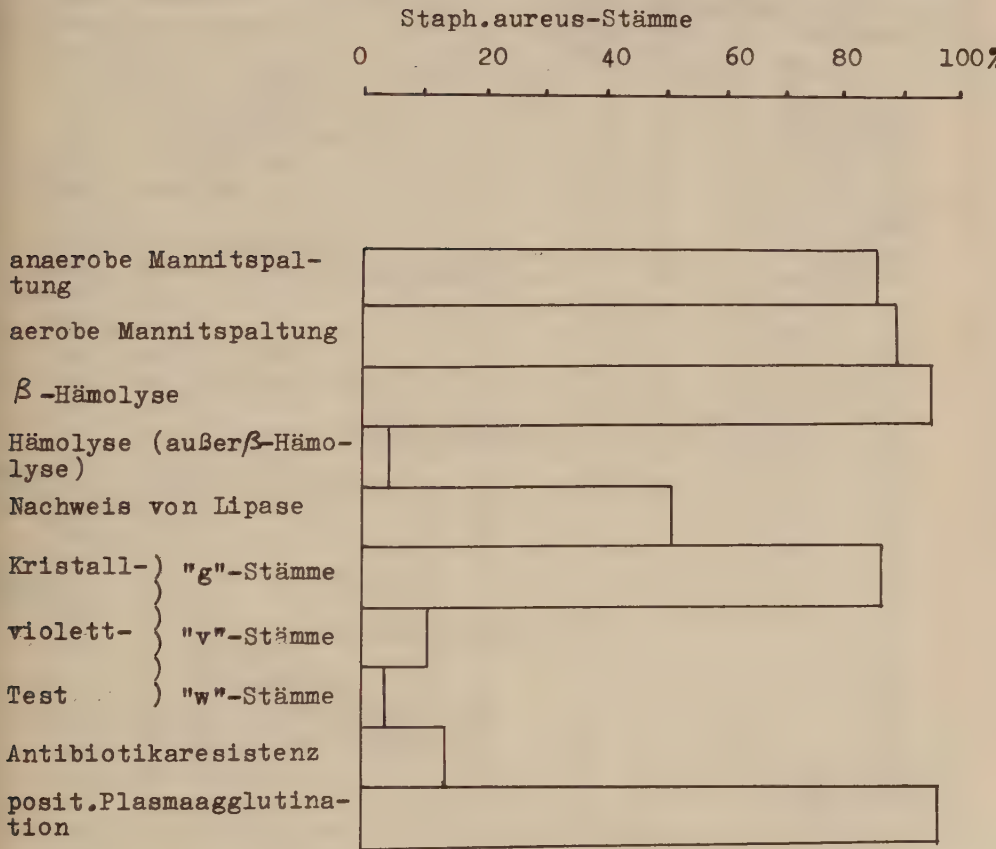
Die Fibrinolysereaktion zeigte, daß alle isolierten bovinen Staph.aureus-Stämme kein Lysevermögen gegenüber Fibrin vom Rind besaßen. Von zehn als Kontrolle mitgeführten koagulasepositiven Menschenstämmen lösten vier das ausgeflockte Fibrin auf.

h) Antibiotogramm

Die Antibiotogramm-Bestimmung der 188 Staph.aureus-Stämme ergab, daß 25 (= 13,3%) antibiotikaresistent waren. Drei Stämme zeigten Doppelresistenz, davon waren zwei resistent gegen Penicillin und Tetracyclin und einer gegen Penicillin und Erythromycin.

Einen Überblick über das Fermentspektrum, die Pigmentbildung auf Kristallviolettagar und das Antibiogramm der Stämme gibt Abbildung 4.

Abb. 4: Übersicht über verschiedene biologische Merkmale von 188 Staph.aureus-Stämmen



Vergleicht man die biologischen Eigenschaften der Stämme untereinander, so ergeben sich unter den 188 Staph.aureus-Stämmen 29 verschiedene Merkmalskombinationen. Dabei unterscheiden sich die geprüften Stämme in einem oder mehreren Merkmalen voneinander.

Tabelle 4: Häufigkeit von Merkmalskombinationen unter den Staph. aureus-Stämmen

Merkmals- kombina- tion	Anzahl der Stämme	isol. aus Anz. der Herden	anaer. Mannit spalt.	Hämo- lyse- Typ	Plas- maagg- lutin	Eigelb test	aer. Mannit spalt.	KV- Test	AB
C	64	10	+	4	+	-	+	g	
J	54	15	+($\pm$)	4	+	+($\pm$)	+	g	
E	12	3	-	4	+	+($\pm$)	-	g	
H	9	6	+	4	+	-	+	v	
F ^x	6	4	+	4	+	+	+	v	
A	5	2	+	4	+	+($\pm$)	+	g	P
X	4	2	+	4	+	-	+	g	T
V	3	2	+	4	+	+($\pm$)	+	w	
Q	3	2	+	4	+	+	+	g	T
F	2	1	+	4	+	+	+	v	P
G	2	1	-	4	+	-	+	g	P
O	2	1	-	4	+	+	-	g	P
R	2	2	+	3	+	-	+	g	
T	2	2	-	2	-	+	+	g	
W	2	2	-	4	+	+	+	g	
C ^x	2	2	-	4	+	-	+	g	
B	2	2	+	4	+	+	+	g	P+T
K	1	1	+	4	-	-	+	g	P
L	1	1	+	0	-	+	+	v	P
M	1	1	-	0	-	+	-	g	P
N	1	1	-	4	+	+	-	g	P+E
S	1	1	+	3	+	-	+	g	T
U	1	1	+	4	-	-	+	g	
Z ^x	1	1	+	4	+	-	+	w	
A ^x	1	1	+	0	-	-	+	g	
B ^x	1	1	-	4	+	-	-	v	
D ^x	1	1	+	1	-	-	+	w	
H ^x	1	1	+	1	-	-	+	g	
J ^x	1	1	+	3	+	+	+	g	

AB = Antibiotikaresistenz

3. Beziehungen zwischen Lysisbildern und anderen biologischen Merkmalen

Die Lysotypie-Ergebnisse der 188 Staphylococcus aureus-Stämme und die Beziehungen zu anderen biologischen Reaktionen dieser Stämme sind in der Tabelle 5 aufgezeichnet.

Tabelle 5: Lysisbilder und andere biologische Merkmale der Staph. aureus-Stämme

Lfd. Nr.	Lysisbild	Anzahl der Stämme	Anzahl der Herden	Merkmalskombinationen
1	1o2/1o7/1o8/111	37	6	C/J/B/V
2	42D/1o2/1o7/1o8/111	33	9	C/F ^x /J/R/V
3	1o1/42D/1o8 +	3o	2	F/J/Q
4	1o7/1o8	22	3	E/M/N/O/B/Q/ R/S/T/J/J ^x /
5	29/52/8o/6/1o2/ +	1o	6	F ^x /H/J/
6	1o1/42E/31B/1o2/1o7/1o8/111/+	8	2	A/E/J/X
7	8o	5	2	F/J
8	1o1	3	3	B/C
9	42D/1o7/1o8	3	2	J
1o	1o1/1o2/1o8/111/ +	2	1	G/K
11	6/+	2	2	J
12	47/77/31B/42D/1o2/1o7/1o8/111/+	2	1	C/H
13	1o1/47/54/+	1	1	A
14	1o1/1o2/1o7/1o8/111	1	1	G
15	31B	1	1	E
16	42D/1o2/1o8	1	1	W
17	31B/42D/1o2/1o7/1o8/111	1	1	U
18	42D	1	1	J
19	11o/47/54/77/31B/42D/1o2/1o7/ 1o8/111/81	1	1	C
2o	1o1/42E/42D/1o8	1	1	L
21	29/52/79/8o/825/11o/6/47/54 77/42D/1o7/1o8/111/81/ +	1	1	C
	unbestimmbar	22	15	A ^x /B ^x /C ^x /D ^x / F ^x /H ^x /E/H/J/ L/W/X/Z

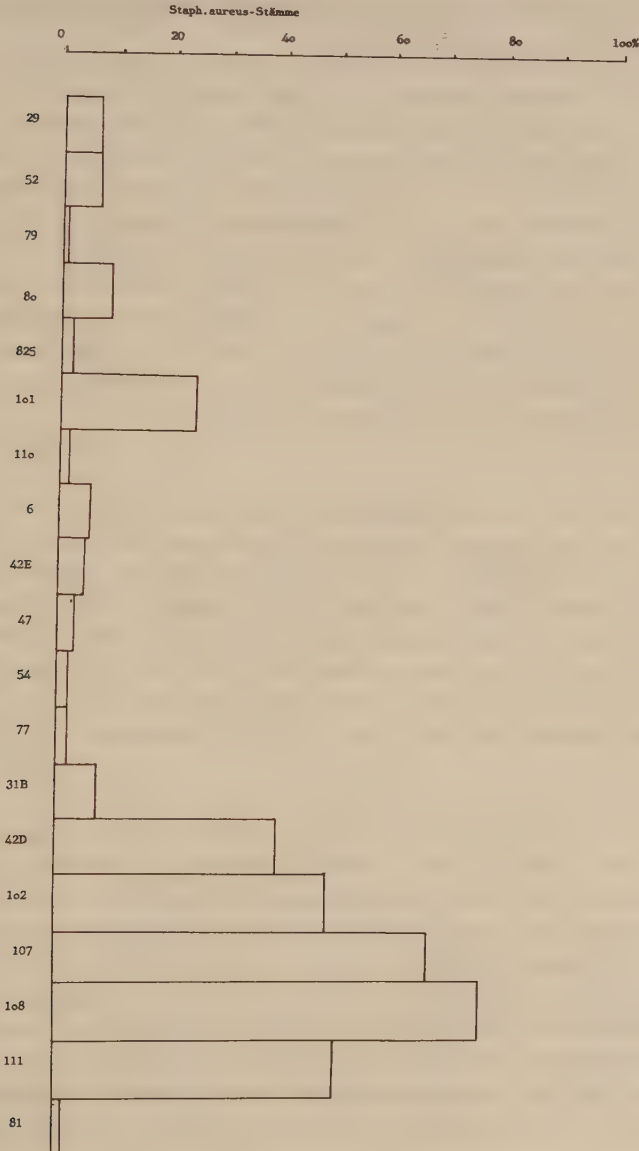
Wie die einzelnen Lysisbilder und die Kombinationen bestimmter biologischer Merkmale pro Herde verteilt sind, zeigt Tabelle 6.

Tabelle 6: Verteilung der Lysisbilder und der biologischen Merkmalskombinationen auf die einzelnen Herden

Herden Nr.	Anzahl Lysisbilder	Anzahl Merkmals- kombinat.	Anzahl d. koagulase + Staphyl.	Herden- größe	Anzahl der Rinder mit pos. Befund
1329	6 ^x	8	13	60	7
2328	2	1	2	10	2
1236	1 ^x	7	18	15	11
767	2 ^x	2	6	9	3
1704	1	2	3	15	2
2279	1 ^x	2	2	12	1
2261	1	1	1	12	1
2050	1	1	2	13	2
219	1	1	2	23	1
2280	0 ^x	2	2	18	2
2254	4 ^x	3	9	16	6
2278	1 ^x	1	1	10	1
1089	1 ^x	2	2	18	2
572	2 ^x	2	2	13	1
1339	1 ^x	3	4	31	4
1858	1	1	2	17	2
1517	1 ^x	2	3	20	3
1349	1	1	1	22	1
1361	1 ^x	3	4	28	3
1359	1	1	2	44	2
1438	1 ^x	2	2	15	2
1397	1 ^x	2	2	11	2
168	1 ^x	2	3	16	2
1478	1	1	1	12	1
1428	1	1	1	13	1
1350	0 ^x	1	1	15	1
1513	1	1	1	13	1
2524	2	5	7	27	6
E	2	3	30	12	11
1328	2	3	30	15	12
2258	1	1	1	4	1
1519	6 ^x	4	28	15	11

^x Nachweis eines oder mehrerer unbestimmbarer Stämme

Die verschiedenen Lysisbilder zeigen, daß Gruppe "78"-Phagen und die Phagen 52A und 53 keinen der getesteten Stämme gelöst hat. Die Häufigkeit, mit der die 188 Staph. aureus-Stämme von den übrigen Phagen gelöst wurden, zeigt nachfolgende Abbildung 5.



Für die einzelnen Phagen wurden folgende Prozentzahlen (in Klammern) ermittelt: 29 (5, 8), 52 (5, 8), 79 (0, 5), 80 (8, 3), 825 (1, 5), 101 (24, 4), 110 (1, 0), 6 (5, 8), 42E (4, 8), 47 (2, 6), 54 (1, 5), 77 (1, 5), 31B (6, 9), 42D (39, 3), 102 (47, 8), 107 (56, 9), 108 (76, 0), 111 (50, 5), 81 (1, 0).

Zwischen den Lysisbildern und den Kombinationen anderer biologischer Merkmale sind keine Beziehungen festzustellen.

IV. DISKUSSION

Über das Vorkommen von *Staphylococcus aureus* in steril entnommenen Viertelgemelkproben liegen Berichte verschiedener Untersucher vor (SCHALM und WOODS 1953, FEILS 1957, HOGH 1960, RENK 1961 u. a.). Insbesondere im anglo-amerikanischen Schrifttum wird auf die hohe Beteiligung von *Staphylococcus aureus* an Euterentzündungen des Rindes berichtet (McCULLOCK 1946, SCHALM und WOODS 1953, WILSON und DAVIDSON 1961 u. a.). Allein durch die Untersuchung der 45 willkürlich ausgewählten Rinderherden aus verschiedenen Gebieten Oberbayerns konnte gezeigt werden, daß Micrococcaceae-Befunde in steril entnommenen Viertelgemelkproben in einem beachtenswerten Umfang vorkommen. Die Kühe in nur vier der 45 Herden schieden keine gram- und katalasepositiven Kokken mit der Milch aus. Es überrascht, daß der Anteil der koagulasenegativen Staphylokokken den Anteil von *Staphylococcus aureus*-Stämmen überwiegt, wenn auch koagulasenegative Staphylokokken viel seltener als koagulasenegative Anlaß zu Euterentzündungen geben (DAVIDSON 1961 b). Hier wäre noch zu klären, ob koagulasenegative Staphylokokken nur kurzfristig das Euter besiedeln.

Der Vergleich der einzelnen Untersuchungsergebnisse ist dadurch erschwert, daß die anaerobe Glucosespaltung, die über die Zugehörigkeit der Stämme zum Genus *Staphylococcus* oder *Micrococcus* entscheidet, in der Methodik nicht einheitlich durchgeführt wird (EVANS 1947, 1948, EVANS et al. 1955, PÖHN 1958, JEFFRIES 1961). Nur im Hinblick auf die Abgrenzung des *Staphylococcus aureus* von den übrigen Micrococcaceae besteht Übereinstimmung insofern, als die positive Koagulasereaktion ein deutliches Merkmal von *Staphylococcus aureus*-Stämmen ist (EVANS und NIVEN 1950, SHAW et al. 1951, GRÜN 1961 a).

Schwierigkeiten ergaben sich bei der Abgrenzung des *Staphylococcus aureus* nach den Richtlinien von BERGEY's MANUAL (1957). Neben der Koagulasereaktion wird dort die anaerobe Mannitspaltung als zweites deutliches Charakteristikum von *Staphylococcus aureus* aufgeführt. Von den koagulasen positiven Stämmen waren aber nur 85,6% auch gleichzeitig zur anaeroben Spaltung des d-Mannits befähigt, während andererseits koagulasenegative Stämme in 12,8% der Fälle d-Mannit anaerob spalteten. Ob diese Ergebnisse vorwiegend bei Stämmen boviner Herkunft auftreten, muß dahingehend beantwortet werden, daß ähnliche Verhältnisse auch bei Stämmen humaner Herkunft festgestellt wurden, wenn auch die angewendete Methodik verschieden war (CHRISTIE et al.

1946, PÖHN 1958, FINK 1961, JEFFRIES 1961, GRÜN 1961 a, PULVERER 1963 u. a.). JEFFRIES (1961) fand beispielsweise unter 233 koagulasepositiven Stämmen 214, unter 261 koagulasenegativen 46 anaerobe Mannitspalter.

Erwartungsgemäß machten die β -Hämolysinbildner den größten Anteil unter den koagulasepositiven bovinen Staphylokokken aus. Die Ergebnisse sind gut vergleichbar mit denen anderer Untersucher (GLENNY und STEVENS 1935, CHRISTIE et al. 1946, SMITH 1947, LEVY et al. 1953, PAPA VASSILIOU und OBIGER 1959 u. a.). In der Humanmedizin dagegen werden β -Hämolysinbildner weitaus seltener beobachtet (GILLESPIE et al. 1939, CHRISTIE et al. 1946, ELEK und LEVY 1950 u. a.).

Zur Herauszüchtung von *Staphylococcus aureus*-Stämmen aus Milch wird von SCHALM Agar mit Zusatz von gewaschenen Rindererythrozyten empfohlen. Die Bedeutung der Verwendung eines solchen Agars für die Staphylokokkendiagnose wurde auch neuerdings von GEDEK (1966 b) herausgestellt. Die hier vorliegenden Beobachtungen zeigen, daß die β -Hämolysinbildung durch Verwendung von Rinderschüttelblut im Vergleich zu gewaschenen Rindererythrozyten gehemmt sein kann. Da die β -Hämolysinbildung ein für die Routinediagnostik schneller und sicherer Hinweis auf die positive Koagulase-reaktion ist, muß auch an dieser Stelle die Wichtigkeit der Verwendung von Agar mit Zusatz gewaschener Rindererythrozyten betont werden.

Im Vergleich zu den Ergebnissen anderer Untersucher konnte ein höherer Prozentsatz an lipasepositiven unter den koagulasepositiven bovinen Staphylokokken ermittelt werden (ALDER et al. 1953, MEYER 1962). Diese Differenz könnte damit erklärt werden, daß in meinen Untersuchungen auch Stämme, die um die Kolonien auf Eigelbagar eine schwache transparente Zone ausbildeten, zu den positiven gerechnet wurden. Von den 188 Stämmen waren 37,8% eindeutig positiv und 13,8% zeigten schwachpositive Reaktion. Auf Grund des günstigen Verhältnisses zwischen lipasepositiven und lipasenegativen Stämmen und in Anbetracht der in der Literatur beschriebenen Konstanz dieser Reaktion dürfte sich der Eigelbtest sehr gut zur Typisierung von bovinen Stämmen eignen.

Der Prozentsatz von koagulasepositiven Stämmen, die Mannit aerob spalteten, war mit 89,9% sehr hoch. EVANS (1948), ELEK und LEVY (1950), ROEMER und SCHMITZ (1951), BURNS und HOLTMAN (1960) u. a. kamen zu ähnlich hohen Prozentsätzen. Schwach positive Stämme wurden unter den aeroben Mannitspaltern nicht gefunden. Für die Differenzierung liegt der Nachteil darin, daß diese Reaktion zu einem hohen Prozentsatz positiv ausfällt.

Mit Hilfe des Kristallviolett-Tests konnten die Stämme eindeutig drei Typen zugeteilt werden. Am häufigsten wuchsen die Stämme auf dem hemmstoffhaltigen Nährboden mit gelbem Pigment, nur selten wurden violett wachsende Stämme beobachtet. Humane Staphylokokkenstämme sollen hingegen dieses Pigment häufig bilden (MEYER 1962). Wegen der klaren Einteilung der Staphylokokken in diese drei Typen, auch bei wiederholter Untersuchung, ist dieser Test zur Differenzierung geeignet.

Die Plasmaagglutination erwies sich als ein für die Routinediagnostik brauchbarer Ersatz für die weit aufwendigere Koagulasereaktion. In 96,8% der Fälle stimmten Koagulasereaktionen und Plasmaagglutination überein. Von sechs verschiedenen Kühen wurde Plasma gewonnen und die Stämme mit den sechs verschiedenen Plasmachargen geprüft. Es gab keine grundsätzlichen Unterschiede in den Reaktionen gegenüber den sechs Plasmachargen. In sieben Fällen fielen stark positive Reaktionen schwach positiv aus oder umgekehrt.

MOREIRA-JAKOB (1953) und GRÜN (1961 a) berichteten, daß die positive Koagulasereaktion der Stämme eine gute Übereinstimmung mit dem Ausfall der Reduktaseprobe zeigt. Die Nachprüfung dieser Ergebnisse mit bovinen Stämmen ergab, daß der Reduktasetest zu variabel ist, um reproduzierbare Ergebnisse zu bekommen und daß ein größerer Prozentsatz von *Staphylococcus aureus*-Stämmen die Methylenblau-Bouillon innerhalb 15 Minuten nicht entfärbte. Ob diese Verhältnisse nur für bovine Stämme zutreffen, mag dahingestellt sein. Im Schrifttum waren derartige Untersuchungen mit bovinen Stämmen nicht zu finden. PÖHN (1958) und PLATSCH (1962) halten allerdings diesen Test auch zur Prüfung humaner Stämme für nicht geeignet.

Für den Fibrinolyse nachweis wurde Fibrin vom Rind verwendet. Einzelne Untersucher halten allerdings das Fibrin vom Menschen für den Nachweis von Fibrinolase für geeigneter. Kein boviner Stamm konnte das Fibrin des Rindes im Agar auflösen. Einige zur Kontrolle mitgeführten pathogenen Menschenstämme vermochten das ausgeflockte Fibrin aufzulösen. CHRISTIE et al. (1946), ELEK und LEVY (1950), St. GEORGE et al. (1962) u. a. berichten, daß bovine Stämme wegen des häufigen Vorkommens von β -Hämolysin selten Fibrinolase bilden. Dieser Test ist in der gewählten Form zur Differenzierung von koagulasepositiven Stämmen boviner Herkunft gänzlich ungeeignet.

25 der koagulasepositiven Staphylokokkenstämme waren antibiotikaresistent. In drei Fällen lag eine Doppelresistenz vor. Am häufigsten wurde Penicillinresistenz beobachtet. Bemerkenswert ist, daß unter den Antibiotikaresistenten ein hoher Prozentsatz Tetracyclinresistente zu finden war. Resistenz gegen

Tetracyclin ist bei humanen Stämmen äußerst selten (PULVERER 1963). Im Vergleich zu den Verhältnissen in der Humanmedizin ist die Rate der antibiotikaresistenten Stämme gering.

Das Antibiotogramm ist ein geeignetes Mittel zur Differenzierung von pathogenen Staphylokokkenstämmen. Die Brauchbarkeit in der veterinärmedizinischen Bakteriologie wird dadurch eingeschränkt, daß nur eine geringe Anzahl von antibiotikaresistenten Stämmen zu finden ist.

Auffallend ist, daß neun von 13 Stämmen aus der Herde 1329 und acht von 18 Stämmen aus der Herde 1236 antibiotikaresistent waren.

Vergleicht man die verschiedenen biologischen Eigenschaften der Stämme, so sind unter den geprüften 188 Stämmen 29 Merkmalskombinationen zu finden. Bestimmte Merkmalskombinationen treten dabei gehäuft auf. Allein 154 Stämme entfallen auf sieben Merkmalskombinationen. Auch in einzelnen Herden herrschen bestimmte Merkmalskombinationen vor. Die in den Milchproben nachgewiesenen Staphylokokken sind in der einzelnen Herde nicht einheitlich, so daß man den bovinen *Staphylococcus aureus*-Stämmen eine verschieden starke Ausbreitungsfähigkeit unterstellen muß.

Die Stämme zeigten 21 Lysisbilder. Auch hier ist wie bei den Kombinationen anderer biologischer Eigenschaften festzustellen, daß bestimmte Lysisbilder dominieren. 77,1% der Stämme entfielen auf sieben Lysisbilder, alle anderen Lysisbilder kamen weniger als viermal vor. In den einzelnen Herden kommt teilweise eine Dominanz bestimmter Lysisbilder vor. Stämme mit ein und demselben Lysisbild ließen sich durch Prüfung einzelner biologischer Leistungen weiterdifferenzieren. Eine Weiterdifferenzierung gelang auch bei den Stämmen, die mittels der Lyso-typie unbestimmbar waren. Die 22 unbestimmbaren Stämme gehörten 13 Merkmalskombinationen an. Unter Berücksichtigung der verschiedenen Merkmalskombinationen und der Lysisbilder konnte keine Herde ermittelt werden, in der alle Staphylokokkenstämme gleiche Eigenschaften aufwiesen. Am häufigsten lösten Gruppe IV-Phagen die Staphylokokken auf. Es muß in den einzelnen Herden mit dem Vorkommen heterologer *Staphylococcus aureus*-Stämme gerechnet werden.

V. ZUSAMMENFASSUNG

1. 2796 steril entnommene Viertelgemelkproben von 700 laktierenden Kühen aus 45 Herden wurden auf das Vorkommen von Keimen der Familie Micrococcaceae Pribram 1929 untersucht.
2. 417 Stämme gram- und katalasepositiver Kokken, die nicht in Paket- oder Tetradenform vorlagen, wurden den Species Staphylococcus aureus und Staphylococcus epidermidis sowie der Gattung Micrococcus zugeordnet.
3. 188 Staphylococcus aureus-Stämme wurden durch Eigelbtest, Kristallviolet-Reaktion, aerobe Mannitspaltung, Plasmaagglutination, Fibrinolysinnachweis, Antibigramm, Hämolysinbildung und Lysotypie differenziert.
4. Nur 85,6% der koagulasepositiven, aber 12,8% der koagulasenegativen Staphylokokken vermochten d-Mannit unter anaeroben Bedingungen zu spalten. Aus diesem Grund bereitet die in BERGEY's MANUAL (1957) für Staphylococcus aureus neben der positiven Koagulasereaktion als zweites deutliches Merkmal geforderte anaerobe Mannitspaltung Schwierigkeiten bei der Klassifizierung boviner Stämme.
5. Unter den 188 Staphylococcus aureus-Stämmen waren 13,3% antibiotikaresistent. Die resistenten Stämme verteilten sich auf neun Herden.
6. Der Reduktasetest muß als variabel und nicht übereinstimmend mit der Koagulasereaktion beurteilt werden.
7. 94,1% der koagulasepositiven bovinen Stämme sind β -Hämolysinbildner. Zum Nachweis der β -Hämolysinbildung eignet sich besonders ein unter Verwendung von gewaschenen Erythrozyten hergestellter Agar.
8. Insgesamt 21 verschiedene Lysisbilder wurden ermittelt. 145 der Stämme entfielen auf nur sieben Lysisbilder. Die Reaktionen gegenüber den Phagen der Lysogruppe IV dominierten.
9. Insgesamt 29 Kombinationen biologischer Merkmale wurden gefunden. Davon entfielen sieben auf 154 Stämme.

10. Die Verteilung von Lysisbilder und anderen Merkmalskombinationen auf die einzelnen Herden zeigt, daß im allgemeinen pro Herde mehrere Lysisbilder und Merkmalskombinationen vorhanden sind.

VI. LITERATURVERZEICHNIS

1. ALDER, V.G., W.A.GILLESPIE and G.HERDAN: Production of opacity in egg-yolk broth by staphylococci from various sources.
J.Path.Bact. 66, 205 (1953)
2. ALDER, V.G., W.A.GILLESPIE and M.E.M.THOMPSON: Virulence and phage patterns of antibioticresistant staphylococci in a hospital.
J.Path.Bact. 70, 503 (1955)
3. ALLISON, V.D.: Discussion on food poisoning.
Proc.Roy.Soc.Med. 42, 214 (1949)
4. ANDERSON, K.: A survey of toxicity in staphylococci.
J.clin.Path. 9, 257 (1956)
5. BAIRD-PARKER, A.C.: A classification of micrococci and staphylococci based on physiological and biochemical tests.
J.gen.Microbiol. 30, 409 (1963)
6. BIRCH-HIRSCHFELD, L.: Über die Agglutination von Staphylokokken durch Bestandteile des Säugetierplasmas.
Klin.Wschr. 13, 331 (1934)
7. BLAIR, J.E., and R.E.O.WILLIAMS: Phage typing of staphylococci.
Bull.Wld.Hlth.Org. 24, 771 (1961)
8. BREED, R.S., E.G.D.MURRAY and N.R.SMITH: Bergey's Manual of determinative bacteriology.
th ed., The Williams and Wilkins Company,
Baltimore 1957
9. BRYCE, L.M., and P.M.ROUNTREE: The production of β toxin by staphylococci.
J.Path.Bact. 43, 173 (1936)
10. BURNS, J., and D.F.HOLTMAN: Biochemical properties of virulent and avirulent staphylococci.
Annals New York Acad.Sci. 88, 1115 (1960)
11. CHAPMAN, G.H.: Lysis of precipitation fibrinogen in agar medium by staphylococci.
J.Bact. 43, 313 (1942)

12. CHAPMAN, G.H.: The significance of sodium chloride in studies of staphylococci.
J.Bact. 50, 201 (1945)
13. CHAPMAN, G.H., and C.BERENS: Crystal violet agar as a differential medium for staphylococci.
J.Bact. 29, 437 (1935)
14. CHRISTIE, R., and E.V.KEOGH: Physiological and serological characteristics of staphylococci of human origin.
J.Path.Bact. 51, 189 (1940)
15. CHRISTIE, R., E.A.NORTH and B.J.PARKIN: Criteria of pathogenicity in staphylococci.
Austr.J.exp.Biol.Med.Sci. 24, 73 (1946)
16. CLAPPER, W.E., and D.C.WOOD: Comparison of three methods for the determination of coagulase activity in staphylococci.
J.Bact. 67, 545 (1954)
17. COLES, E.H., and A.EISENSTARK: II. Staphylococcic phages. The use of human typing phages and adapted human typing phages in the typing of *Staphylococcus aureus* of animal origin.
Am.J.vet.Res. 20, 835 (1959)
18. COWAN, S.T.: The classification of staphylococci by precipitation and biological reactions.
J.Path.Bact. 46, 31 (1938)
19. COWAN, S.T.: The classification of staphylococci by slide agglutination.
J.Path.Bact. 48, 169 (1939)
20. COWAN, S.T.: Specific epithet for the type species of *Staphylococcus*.
Int.Bull.bact.Nomencl. 5, 133 (1955)
21. CZERNICKI, B.: Mastitisstaphylokokken.
Berl.Münch.Tierärztl.Wschr. 15, 298 (1961)
22. DARANYI, J.v.: Pathogenität und Einteilung der Staphylokokken.
Zbl.Bakt. I Orig. 99, 74 (1926)
23. DAVIDSON, I.: A set of bacteriophages for typing bovine staphylococci.
Res.vet.Sci. 2, 396 (1961 a)
24. DAVIDSON, I.: The epidemiology of staphylococcal mastitis.
Vet.Rec. 73, 1015 (1961 b)

25. DAVIDSON, I.: A phage typing of bovine staphylococci.
Vortrag anlässlich des 5. Colloquiums über Fragen
der Lysotypie vom 4.-7.10.1965 in Wernigerode (Harz)
26. DIERNHOFER, K.: Diagnostik der Euterentzündungen.
Wiener tierärztl. Mschr. 37, 809 (1950)
27. ECKERT, A.: Verbreitung und Bekämpfung der infektiösen Mastitiden
im Milcheinzugsgebiet Lübeck in den Jahren 1954 bis
1958 mit besonderer Berücksichtigung der Staphylokok-
keneuterinfektionen.
Inaugural-Diss., Freie Univ. Berlin, 1959
28. EDWARDS, S.J., and J.E. RIPPON: The characters and distribution of
certain staphylococci pathogenic for the bovine udder.
J. comp. Path. 67, 111 (1957)
29. ELEK, St.D., and E. LEVY: Distribution of haemolysins in pathogenic and
non-pathogenic staphylococci.
J. Path. Bact. 62, 541 (1950)
30. EPSTEIN, St.: Untersuchung über die Unterscheidung der Staphylo-
kokken bei den verschiedenen Staphylokokkenerkran-
kungen der Haut.
Arch. Dermat. Syph. (Wien) 170, 586 (1934)
31. EVANS, J.B.: Anaerobic fermentation of mannitol by staphylococci.
J. Bact. 54, 266 (1947)
32. EVANS, J.B.: Studies of staphylococci with special reference to the
coagulase-positive types.
J. Bact. 55, 793 (1948)
33. EVANS, J.B., and C.F. NIVEN: A comparative study of known food
poisoning staphylococci and related varieties.
J. Bact. 59, 545 (1950)
34. EVANS, J.B., W.L. BRADFORD and C.F. NIVEN: Comments concerning
the taxonomy of genera Micrococcus and Staphylococcus.
Int. Bull. Bact. Nomencl. 5, 61 (1955)
35. FEILS, G.: Über die Pathogenität der in der Milch vorkommenden
Staphylokokken.
Arch. Lebensmittelhyg. 8, 33 (1957)

36. FINK, H.G.: Vergleichende diagnostische Untersuchungen zur routinemäßigen Differenzierung pathogener und apathogener vom Tier stammender Staphylokokken. Inaugural-Diss., Tierärztl. Fakultät München, 1961
37. FISHER A.M.: The plasma coagulation properties of staphylococci. Bull. Johns Hpk. Hosp. 59, 393 (1936)
38. FISK, R. T.: Studies on staphylococci. I. Occurrence of bacteriophage carriers among strains of Staphylococcus aureus. II. Identification of Staphylococcus aureus strains by means of bacteriophage. J. inf. Dis. 71, 153 (1942)
39. GALTON, M., and J. H. STEELE: Laboratory and epidemiological aspects of food borne diseases. J. Milk Food Technol. 24, 104 (1961)
40. GEDEK, W.: Ein Bakteriophagensatz zur Typisierung boviner Staphylokokken. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 15, 292 (1966 a)
41. GEDEK, W.: Zur Routinediagnostik in Milch vorkommender Staphylokokken und Mikrokokken. Arch. Lebensmittelhyg. 17, 110 (1966 b)
42. GILLESPIE, E. H., E. A. DEVENISH and S. T. COWAN: Pathogenic staphylococci. Their incidence in the nose and on the skin. Lancet 1939, 870
43. GILLESPIE, E. H., and V. G. ALDER: Production of opacity in egg-yolk media by coagulasepositive staphylococci. J. Path. Bact. 64, 187 (1952)
44. GLENNY, A. T., and M. F. STEVENS: Staphylococcal toxine and antitoxins. J. Path. Bact. 40, 201 (1935)
45. GRAVIE, E. J., T. M. HIGGS and F. K. NEAVE: Unusual varieties of Staphylococcus aureus. J. Path. Bact. 81, 255 (1961)
46. GRÜN, L.: Serologische Untersuchungen an pyogenen Staphylokokken. Z. Hyg. Infekt.-Kr. 144, 238 (1957)
47. GRÜN, L.: Alte und neue Probleme der Staphylokokken. Ergebn. Mikrobiol. Imm. exp. Ther. 31, 130 (1958 a)

48. GRÜN, L.: Über ein neues Staphylokokken-Antigen.
Z. Hyg. Infekt.-Kr. 145, 259 (1958 b)
49. GRÜN, L.: Über Beziehungen zwischen Pigmentation, Antibiogramm und Antigenstruktur bei pathogenen Staphylokokken.
Zbl. Bakt. I Orig. 174, 184 (1959)
50. GRÜN, L.: Die biochemischen Eigenschaften der Staphylokokken im Hinblick auf Pathogenitätsbestimmung und Differenzierung der Keime zur Erkennung des Staphylokokken-Hospitalismus.
Forschungsberichte des Landes NRW, Westdeutscher Verlag Köln und Opladen, 1961 a
51. GRÜN, L.: Über neue Staphylokokken-Antigene.
Zbl. Bakt. I Orig. 181, 210 (1961 b)
52. GRÜN, L.: Staphylokokken in Klinik und Praxis.
Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH., Stuttgart 1964
53. HALLMANN, L.: Bakteriologie und Serologie.
Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1961
54. HAUKENES, G., and P. OEDING: On two new antigens in Staphylococcus aureus.
Acta Path. Microbiol. Scand. 49, 237 (1960)
55. HILL, L. R.: The Adansonian classification of staphylococci.
J. gen. Microbiol. 20, 277 (1959)
56. HINTON, N. A., and J. H. ORR: The distribution of toxins in coagulase-positive staphylococci isolated from infections and carriers.
J. lab. clin. Med. 50, 901 (1957)
57. HOBBS, B. C.: A study of serological type differentiation of Staphylococcus pyogenes.
J. Hyg. (Lond.) 46, 222 (1948)
58. HOFFMANN, G.: Ein Beitrag zur Diagnostik von Staphylokokken mittels Bakteriophagen aus tierischem Material.
Monatshefte f. Veterinärmed. 1959, 122
59. HOGH, P.: Coagulase-positive, α - β -toxicogenic udder staphylococci.
Nord. Vet.-Med. 12, 588 (1960)

60. INTERNATIONAL COMMITTEE on phage typing of staphylococci.
Int. Bull. bact. Nomencl. 9, 115 (1959)
61. ISAACS, A., and J.M. SCOLLER: Catalase production by gram-positive cocci: a simple test for differentiating enterococci from micrococci.
J. Path. Bact. 60, 135 (1948)
62. ISHII, K.: Studies on serological typing of staphylococci isolated from bovine milk.
Jap. J. vet. Sci. 21, 139 (1959)
63. JEFFRIES, Ch. D.: Comparison of six physiologic characteristics of staphylococci from laboratory specimens.
Am. J. clin. Path. 36, 114 (1961)
64. JESSEN, O., V. FABER, K. ROSENDAL and K. R. ERIKSEN: Some properties of *Staphylococcus aureus*, possibly related to pathogenicity.
I. A study of 446 strains from different types of human infection.
Acta Path. Microbiol. Scand. 47, 316 (1959)
65. KAFFKA, A.: Erfahrungen mit einfachen Untersuchungsmethoden zum Nachweis von Hyaluronidase, Fibrinolysin und Phosphatase bei Staphylokokken.
Zbl. Bakt. I Orig. 168, 381 (1957)
66. KÄSTLI, P., und M. BINZ: Die Bedeutung der Euterinfektion für die Entstehung von katarrhalischen Sekretionsstörungen (Euterkatarrhen) bei der Milchkuh.
Schweizer Arch. Tierheilk. 90, 349 (1948)
67. KIELWEIN, G.: Die Ermittlung euterpathogener Staphylokokken.
Zbl. Bakt. I Orig. 178, 434 (1960)
68. KIMLER, A.: Evaluation of mediums for identification of *Staphylococcus aureus*.
Am. J. clin. Path. 37, 593 (1962)
69. KLAstrup, O.: Krystalviolet agar til differentiering af staphylokokker, isolerede fra aseptisk udtagne mælkeprover.
Nord. Vet.-Med. 7, 315 (1955)

70. KLEINSCHMIDT, H.: Fibrinbildende und -auflösende Wirkung von Staphylokokken (Staphylokinase und Staphylofibrinolysin). Z.Imm.-Forsch. 3, 516 (1909)
71. KOLLE, W., und R.OTTO: Die Differenzierung der Staphylokokken mittels der Agglutination. Z.Hyg. Infekt.-Kr. 41, 369 (1902)
72. KREBS, M.: Untersuchung an Schlachtkühen über die Infektion des Euters. Inaugural-Diss., Univ. Bern, 1960
73. LEVY, E., J.E.RIPPON and R.E.O.WILLIAMS: Relation of bacteriophage pattern to some biological properties of staphylococci. J.gen.Microbiol. 9, 97 (1953)
74. MANN, P.H.: Bakteriophage typing of staphylococci isolated from animals. Canadian J. publ. Hlth. 51, 153 (1960)
75. MARK, J., and A.C.T.VAUGHAN: Staphylococcal -haemolysin. J.Path.Bact. 62, 597 (1950)
76. MARKUSE, J.: Diskussionsbemerkung. 4. Colloquium über Fragen der Lysotypie in Wernigerode (Harz). Tagungsbericht, S.137 (1960)
77. McCULLOCK, E.C.: The incidence of staphylococcal mastitis in the northwest. J.dairy Sci. 29, 177 (1946)
78. MEYER, W.: Die Staphylokokkenerkrankungen des Menschen, Johann Ambrosius Barth-Verlag, Leipzig, 1962
79. MILCH, H.: Beobachtungen von Staphylococcus-Infektionen in Krankenhäusern mit Hilfe der Lysotypie. 4. Colloquium über Fragen der Lysotypie in Wernigerode (Harz). Tagungsbericht, S.120 (1960)
80. MOREIRA-JAKOB, M.: A reliable methylene blue (reductase) test for the identification of pathogenic staphylococci. VI. Intern. Kongr. Mikrobiol. Rom 1953
81. MORRISON, S.M., J.F.FAIR and K.K.KENNEDY: Staphylococcus aureus in domestic animals. Publ.Hlth.Rep. 76, 673 (1961)

82. NAKAGAWA, M.: Studies on bacteriophage typing of staphylococci isolated from bovine milk.
I. Typing by means of 20 phages of the international series.
Japan.J.vet. Res. 8, 191 (1960 a)
83. NAKAGAWA, M.: Studies on bacteriophage typing of staphylococci isolated from bovine milk.
III. Typing by means of a new phage set.
Japan.J.vet.Res. 8, 331 (1960 b)
84. OBIGER, G.: Zur Frage der milchhygienischen Bedeutung der Staphylokokken.
Arch. Lebensmittelhyg. 11, 265 (1960)
85. OEDING, P.: Serological typing of staphylococci.
Acta Path.Microbiol.Scand. 93, 356 (1952)
86. OEDING, P.: A simple serological procedure for the differentiation between pyogenic and saprophytic staphylococci.
Acta Path.Microbiol.Scand. 32, 187 (1953 a)
87. OEDING, P.: Serological typing of staphylococci.
II. Investigations on the serological, chemical and physical properties of the antigens.
Acta Path.Microbiol.Scand. 33, 312 (1953 b)
88. OEDING, P.: Serological typing of staphylococci.
III. Further investigations and comparison to phage typing.
Acta Path. Microbiol.Scand. 33, 324 (1953 c)
89. OEDING, P.: Serological studies in hospital staffs.
IV. Serological investigations.
Acta Path. Microbiol.Scand. 34, 34 (1954)
90. OEDING, P.: Antigenic properties of Staphylococcus aureus.
Bact. Rev. 24, 374 (1960)
91. OEDING, P. and Th.M. VOGELSANG: Staphylococcal studies in hospital staffs. V. Comparison between serological typing and phage typing.
Acta Path.Microbiol.Scand. 34, 47 (1954)
92. PAGANO, J.S., S.M.FARRER, St.A.PLOTKIN, Ph.S.BRACHMAN, F.R.FEKETY and V.PIDCOE: Isolation from animals of human strains of staphylococci during an epidemic in a veterinary school.
Science N.S. 131, 927 (1960)

93. PAPA VASSILIOU, J., und G. OBIGER: Über das Vorkommen und das Phagenbild von koagulasepositiven Staphylokokken in Milch.
Zbl. Bakt. I Orig. 175, 505 (1959)
94. PARKER, M. T.: Some cultural characteristics of Staphylococcus aureus strains from superficial skin infections.
J. Hyg. 56, 238 (1958)
95. PLATSCH, R.: Über Pathogenitätsbestimmung bei Staphylokokken unter besonderer Berücksichtigung des Reduktasetestes.
Wissenschaftl. Zschr. der Karl-Marx-Univ. Leipzig 11, 730 (1962)
96. PÖHN, H. Ph.: Zur Differenzierung von Staphylokokken.
Z. Imm.-Forsch. exp. Therap. 116, 92 (1958)
97. POHJA, M. S.: Micrococci in fermented meat products.
Classification and description of 171 different strains.
Suom. Maataloust. Seur. Julk. no. 96 (1960)
98. POPOVICI, M., N. NESTORESCU, E. ALEXENCO und A. FILOTTI:
Untersuchungen über die Empfindlichkeit nicht-typisierbarer Staphylokokken gegenüber einigen zusätzlichen Phagen.
Zbl. Bakt. I Orig. 181, 489 (1961)
99. PRICE, P., F. K. NEAVE, J. E. RIPPON and R. E. O. WILLIAMS: The use of typing and penicillin sensitivity tests in studies of staphylococci from bovine mastitis.
J. dairy Res. 21, 342 (1954)
100. PRÖSCHER: Über die künstliche Immunität gegen Staphylokokken.
Zbl. Bakt. I Orig. 34, 437 (1903)
101. PULVERER, G.: Lysotypie, Serologie und Antibiotogramme pyogener Staphylokokken im Kölner Raum.
Z. Hyg. Infekt.-Kr. 147, 417 (1961)
102. PULVERER, G.: Pathogene Staphylokokken bei Mensch und Tier sowie im Freiland.
Habilitationsschrift, Medizinische Fakultät, Univ. Köln, 1963
103. RENK, W.: Pathogenese der durch Staphylokokken hervorgerufenen Euterentzündungen.
Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 74, 1 (1961)

104. ROEMER, G.B., und B. SCHMITZ: Untersuchungen über die Eignung verschiedener Methoden zur Differenzierung pathogener und apathogener Staphylokokken unter besonderer Berücksichtigung der Plasmaagglutination, Glukosamin- und Harnstoffspaltung.
Arch. Hyg. 135, 274 (1951)
105. SCHAACK, G.: Die Differenzierung von pyogenen Staphylokokken unter Verwendung von Schwermetall- und Zuckernährböden.
Zbl. Bakt. I Orig. 162, 167 (1955)
106. SCHALM, O.W.: A syllabus on the mammary glands in health and disease.
Eigenverlag (ohne Jahresangabe)
107. SCHALM, O.W., and G.M. WOODS: Micrococcus pyogenes in bovine milk.
I. Identification.
Am.J. vet. Res. 14, 530 (1953)
108. SHAW, C., J.M. STITT and S.T. COWAN: Staphylococci and their classification.
J. gen. Microbiol. 5, 1010 (1951)
109. SLANETZ, L.W., and C.H. BARTLEY: Bacteriophage and serological typing of staphylococci from bovine mastitis.
J. Inf. Dis. 110, 238 (1962)
110. SMITH, H.W.: The examination of staphylococci of animal origin with particular regard to the determination of criteria of pathogenicity.
J. comp. Path. 57, 98 (1947)
111. SMITH, H.W.: Investigation on the typing of staphylococci by means of bacteriophage.
I. The origin and nature of lysogenic strains.
J. Hyg. (Camb.) 46, 74 (1948 a)
112. SMITH, H.W.: Investigation on the typing of staphylococci by means of bacteriophage.
II. The significance of lysogenic strains in staphylococcal type designation.
J. Hyg. (Camb.) 46, 82 (1948 b)
113. SMITH, H.W.: Experimental staphylococcal infection in chickens.
J. Path. Bact. 67, 81 (1954)

114. ST.GEORGE, C., K.E.RUSSEL and J.B.WILSON: Characteristics of staphylococci from bovine milk.
J.inf.Dis. 110, 75 (1962)
115. THATCHER, F.S., and W.SIMON: Some physiological and toxigenic properties of members of genus *Staphylococcus* in relation of taxonomy.
Int.Bull.bact.Nomencl. 7, 21 (1957)
116. THÖRNE, H., and G.WALLMARK: Studies on staphylococcal mastitis in an individual herd with special reference to phage types of isolated staphylococci.
Acta Vet.Scand. 1, 114 (1960)
117. WALLACE, G.D., W.B.QUISENBERRY, R.H.TANIMOTO and F.T.LYND: Bacteriophage typing "80/81" staphylococcal infection in human beings associated with mastitis in dairy cattle.
Am.J. publ. Hlth. 52, 1309 (1962)
118. WHITE, F., and J.McDONALD: Some observations on an outbreak of staphylococcal mastitis in a dairy herd.
J.comp.Path. 71, 159 (1961)
119. WILLIAMS, R.E.O., and G.J.HARPER: Staphylococcal haemolysins on sheep-blood agar with evidence for a fourth haemolysin.
J.Path.Bact. 59, 69 (1947)
120. WILLIAMS, R.E.O., and J.D.ATKINSON: Typing of staphylococci by the bacteriophage method.
Lancet 1945, 647
121. WILLIAMS, R.E.O., and J.E.RIPPON: Bacteriophage typing of *Staphylococcus aureus*.
J.Hyg. 50, 320 (1952)
122. WILSON, C.D., and J.DAVIDSON: The control of staphylococcal mastitis.
Vet. Rec. 73, 321 (1961)
123. WORMS, R.: L'infection staphylococcique.
Verlag Flammarion, Paris 1960
124. WORSECK, M., J.GÜRLICH und J.HEMLEP: Enterotoxische Staphylokokken in Rohmilch Berliner Abmelkbetriebe.
J.Hyg.Epid.Microbiol. Imm. (Prag) 4, 123 (1960)

Zum Schluß dieser Arbeit möchte ich nicht versäumen, Herrn Professor Dr. L. Kotter herzlich für die Überlassung dieser Arbeit zu danken.

Gleichzeitig möchte ich Herrn Dr. W. Gedeck für die Hilfe und Unterstützung danken, die er mir angedeihen ließ.

L e b e n s l a u f

Am 7. Dezember 1938 wurde ich, Kurt Kroiherr, als Sohn des Papieringenieurs Otto Kroiherr und dessen Ehefrau Anna, geb. Baumann, in Kienberg geboren.

Nach vierjähriger Grundschulzeit besuchte ich in Ober-Ramstadt die Aufbauschule. 1954 wechselte ich in die Lahntalschule Biedenkopf über, wo ich 1960 die Reifeprüfung ablegte.

Im Wintersemester 1961/62 begann ich mit dem Studium der Tiermedizin an der Universität München und bestand im Juli 1966 die tierärztliche Prüfung.

